

In vitro-Untersuchungen zur Anlagerung von  
Porphyromonas gingivalis  
an verschiedenen zahnärztlichen  
Füllungsmaterialien

**Dissertation**  
**zur Erlangung des akademischen Grades**  
**doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)**

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät**  
**der Friedrich Schiller Universität Jena**

**von Rüdiger Büsing**

**geboren am 06.04.1967 in Sande/Friesland**

## Inhaltsverzeichnis

1.	Zusammenfassung	3
2.	Einleitung	5
3.	Ziele der Arbeit	12
4.	Material und Methoden	14
4.1	Erwartungen an den Versuchsaufbau	14
4.2	Versuchsaufbau (Struktur Dynamisches System)	15
4.2.1	Vorbehandlung der Prüfkörper	16
4.2.2	Künstlicher Speichel	17
4.2.3	Keimsuspension	17
4.2.4	Versuchsverlauf (Dynamisches System)	18
4.3	Versuch zum Einfluß des Materials auf die Wachstumsrate (Statisches System)	19
4.4	Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen	20
4.5	Statistik	20
5.	Ergebnisse	21
5.1	Dynamisches System	21
5.2	Statisches System	26
5.3	Rasterelektronmikroskopische Aufnahmen	28
6.	Diskussion	34
7.	Schlußfolgerungen	42
8.	Literatur	44
	Anhang	55
	Danksagung	58
	Lebenslauf	59
	Ehrenwörtliche Erklärung	60

## 1. Zusammenfassung

*Porphyromonas gingivalis* ist ein bedeutender, wenn nicht der bedeutendste Verursacher der aggressiven Parodontitis. Die vorliegende Arbeit hat es sich zur Aufgabe gemacht, neue Erkenntnisse zum Verhalten von *P. gingivalis*, insbesondere bei der Anlagerung an dentale Füllungsmaterialien zu gewinnen.

In einer In-vitro-Untersuchung wurde eine in einer geschlossenen Kammer befindliche Trägerscheibe mit tablettenförmigen Prüfkörpern beschickt, mittels einer Keimsuspension mit *P. gingivalis* eluiert und über eine von außen zugeführte Nährlösung über einen Zeitraum von 72 Stunden versorgt. Nach anschließender Spülung mit physiologischer Kochsalzlösung gelangten die durch Ultraschallschwingung von der Prüfkörperoberfläche gelösten vitalen Keime zur quantitativen Auswertung.

In einer weiteren Versuchreihe wurden mit Keimsuspension versehene Reagenzgläser mit den verschiedenen Prüfkörpern in Form von tablettenförmigen dentalen Füllungsmaterialien unterschiedlichen Alters bestückt und der Einfluß der Werkstoffe auf die Wachstumsraten nach 24 stündiger Kultivierung ermittelt.

Zur Anwendung kamen fünf verschiedene dentale Füllungsmaterialien:

Amalcap (Amalgam), Ketac Fil (Glasionomerzement), BioMaingold SG (Goldlegierung), Tetric (Komposit) und Empress (Keramik).

Ergebnisse:

Auf unterschiedlichen Materialien finden unterschiedlich starke Anlagerungen statt, wobei sich einzelne Materialien im Anlagerungsverhalten ähneln.

Auf Bio Maingold SG adhären signifikant weniger *P. gingivalis* als auf den Vergleichswerkstoffen.

Auf Amalcap adhärert hochsignifikant mehr *P. gingivalis* als auf den Vergleichswerkstoffen.

Ketac Fil, Tetric und Empress weisen ähnliche, im Vergleich mittlere Besiedelungsraten auf.

Diffusionsstoffe aller Werkstoffe haben kaum Einfluß auf das Bakterienwachstum. Lediglich bei Amalcap zeigte sich ein wachstumsfördernder und bei Ketac Fil ein wachstumshemmender Effekt, der jedoch im Laufe des Alterungsprozesses an Intensität verlor.

Grundsätzlich nutzt *P.gingivalis* gern Oberflächeninkontinuitäten wie Lunker und Porositäten, um diese zu besiedeln.

Schlußfolgernd stellt Amalcap nicht das Material der Wahl bei der konservierenden Versorgung von Parodontitisrisikopatienten dar. Beste Variante ist, losgelöst von in dieser Arbeit unberücksichtigten Parametern, eine Versorgung mit BioMaingold SG noch vor einer mit Ketac Fil, Tetric oder Empress.

Bei der Verarbeitung aller Materialien sollte die Erzielung eines möglichst geringen Umfangs an Oberflächenrauigkeiten angestrebt werden, um deren Besiedelung zu vermeiden.

## **2. Einleitung**

Die Parodontologie gewinnt in der modernen Zahnmedizin zunehmend an Bedeutung. Begründet ist dies durch den Rückgang des Zahnverlustes aufgrund von Karies, hervorgerufen durch Zunahme der Prophylaxemaßnahmen und substanzschonenderen Vorgehensweisen in der konservierenden Zahnheilkunde. Somit steigt die Bedeutung des Zahnverlustes durch Parodontopathien (Reich, 2001). Eine Zunahme der Kenntnisse auf diesem Gebiet und sich daraus ergebenden neuen Therapieformen hat zur Folge, daß parodontale Attachmentverluste aufgehalten oder gar rückgängig gemacht werden (Al-Yahfoufi et al., 1995). Der ätiologisch wichtigste Faktor bei Parodontitiden ist die Plaque (Löe et al., 1965, Shibly et al., 1995). Ziel einer Parodontalbehandlung ist demzufolge die Plaquereduktion und damit die Minderung oder gar Beseitigung besonders der maßgeblichen pathogenen Keime. Im Vordergrund stehen dabei die Hygienisierungsmaßnahmen, ob mit Hand-, Strahl- oder Schall/Ultraschallinstrumenten. Will man die Plaque wirksam bekämpfen und ihre Neubildung erschweren, ist es hilfreich, möglichst viele Kenntnisse über diesen Biofilm zu gewinnen.

### **Biofilm**

Eine Schlüsselfunktion bei der Besiedelung intraoraler Oberflächen nimmt die Pellikelschicht ein. Diese entsteht durch die Adsorption von Molekülen aus Speichel, Sulcusflüssigkeit, Serum und der Schleimhaut, welche vornehmlich aus Proteinen und Glykoproteinen bestehen (Marsh et Bradshaw, 1995). Auf ihr werden hauptsächlich spezifische Bindungsmöglichkeiten für Bakterien bereitgestellt (Ellen et al., 1997). Sie kann in ihrer Zusammensetzung variieren und so Einfluß auf Qualität und Quantität der Bakterienflora ausüben (Rüdiger et al., 2002).

Die subgingivale Plaque als Biofilm stellt eine komplexe Mischung aus mindestens 300 Bakterienspezies und ihren Stoffwechselprodukten dar (Lamont und Jenkinson, 1998). In der Regel existiert ein biologisches Gleichgewicht zwischen Immunabwehr des Wirtes und den Keimen bzw. ihren Virulenzfaktoren, aber auch zwischen den verschiedenen Bakterienspezies untereinander, z.B. in Form von sym- und antibiontischen Mechanismen (Sbordone et Bortolaia, 2003). Alle Arten von parodontal pathogenen Mundkeimen können vereinzelt auch bei

parodontal gesunden Individuen vorkommen, ohne dabei zur natürlichen Standortflora zu gehören (Okada et al., 2000, Hamlet et al., 2001). Bei dem Auftreten entzündlicher Vorgänge ist jedoch eine Veränderung der Besiedelung in quantitativer bzw. qualitativer Hinsicht zu beobachten (Lamont et Jenkinson, 1998). Bei Bestimmungen von Keimen aus Proben entzündeten Parodontien finden sich gehäuft bestimmte Bakterien, welche maßgeblich für Entstehung, Unterhaltung und Fortschreiten der Entzündung verantwortlich gemacht werden. Gegenüber der supragingivalen Plaque ist eine Verschiebung des Keimspektrums zugunsten anaerober, gramnegativer Stäbchen zu beobachten (Listgarten 1976, 1994). Zu ihnen zählen: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* und *Tannerella forsythensis* (früher *Bacteroides forsythus*), aber auch die gramnegativen Spirochäten *Treponema denticola* und *Campylobacter rectus*. Diese Parodontalpathogene können geschützt in einem Biofilm auch supragingival angetroffen werden und von dort aus zu einer wiederholten Infektion des Parodonts führen (Ximenez-Fyvie et al., 2000). So konnte gezeigt werden, daß eine regelmäßige Reduktion von supragingival angetroffenen Parodontalpathogenen auch zu deren Reduktion im subgingivalen Bereich führen kann (Ximenez-Fyvie et al., 2000).

Mittlerweile bietet sich dem Praktiker die Möglichkeit, über kommerziell erhältliche Tests (z.B. MicroDent, Fa. HAIN Diagnostika, Nehren oder LCL Parodontitis-Test, LCA Biokey, Aachen), eine molekularbiologische Diagnostik dieser sogenannten Markerkeime vornehmen zu lassen, um so eine detailliertere Diagnose zu stellen, den Therapieverlauf zu verfolgen, adjuvant eine gezielte Antibiotikatherapie durchzuführen oder eine Parodontitisrisikoeinschätzung anzustellen.

### **Porphyromonas gingivalis**

Die verschiedenen Spezies der Parodontalpathogene weisen aufgrund der Ausstattung mit unterschiedlichen Virulenzfaktoren einen unterschiedlichen Pathogenitätswert auf. Besonders die Erkrankungen, welche mit starken Abbauerscheinungen des Parodonts einhergehen, stehen im Zusammenhang mit einer Manifestation durch *Porphyromonas gingivalis* (Lamont und Jenkinson, 1998).

Bei *Porphyromonas gingivalis* (früher *Bacteroides gingivalis*) handelt es sich um ein schwarzpigmentiertes, gramnegatives, obligat anaerobes Stäbchen. Es kann eine Kapsel tragen und ist mit Fimbrien ausgestattet. Dieser Keim ist assoziiert mit progressiven Formen der Parodontitis, nach aktueller internationaler Klassifizierung (Armitage, 1999) Aggressive Parodontitis (AP) genannt. Er gehört nicht zur natürlichen Standortflora der Mundhöhle, obwohl er auch bei parodontal Gesunden gelegentlich angetroffen wird (Hamlet et al., 2001). Nach der europäischen Klassifizierung von 1993, welche die verschiedenen Krankheitsformen in Zusammenhang mit dem Patientenalter stellt, ist *P. gingivalis* gehäuft bei adulter (AP) und rasch fortschreitender Parodontitis (RPP) anzutreffen. Trotzdem kann *P. gingivalis* vereinzelt z.B. auch bei Kindern isoliert werden (Okada et al., 2000). Des weiteren wird *P. gingivalis* in Zusammenhang mit kardiovaskulären Erkrankungen gebracht. Zu ihnen zählen Thrombembolien in Verbindung mit Arteriosklerose sowie Myokardinfarkte, wobei über den Blutweg die Streuung der Bakterien aus dem chronisch infizierten Parodont erfolgt (Sharma et al., 2000).

Der hohe Pathogenitätswert ist begründet durch umfassende Fähigkeiten, sich an verschiedene Oberflächen anzulagern, teilweise die Wirtsabwehr zu blockieren und den Strukturabbau des Parodonts voranzutreiben. Weiterhin kann das Bakterium in Epithelzellen migrieren und sich dort auch replizieren (Sandros et al., 1994, Madianos et al., 1996). Möglich ist auch ein Verharren bei geringer Aktivität. Untersuchungen von Cullinan et al. (2003) zeigen in einer Fünfjahresstudie, daß die Möglichkeit der Erwerbung, der Erhaltung, aber auch des Verlustes von *P. gingivalis* auch ohne Therapie besteht (Cullinan et al., 2003). Proteolytische Fähigkeiten insbesondere durch arginin- und lysinspezifische Cysteinproteinasen ermöglichen *P. gingivalis* die Spaltung von:

- Kollagen 1, 3, 4, 5 (Lamont and Jenkinson, 1992)
- IgG, IgA (Kadowaki et al., 1994)
- IL-6, IL-8 (Zhang et al., 1999)
- Fibrinogen, Fibronectin, Laminin (Lamont und Jenkinson, 1992).

In Monozyten, polymorphnukleären Granulozyten (PMN), Makrophagen und Fibroblasten kann die Freisetzung verschiedener Zytokine stimuliert werden, die dann maßgeblich den Abbau des Parodontes vorantreiben. Zu ihnen zählen: IL-1 $\alpha$  IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , GM-CSF und

KC(Granulocyte-macrophage colony stimulating factor) und KC (neutrophil chemoattractant killer cells) (Lamont and Jenkinson, 1992). Weiterhin können Matrixmetalloproteinasen (MMP), die als zellständige Enzyme dann den Abbau des Parodonts vorantreiben, aktiviert werden (Grayson et al., 2003).

Als Energielieferant dienen *P. gingivalis* stickstoffhaltige Verbindungen bzw. Aminosäuren und Peptide. Saccharose gehört nicht zu seinen Nährstoffen (Curtis et al., 2002). Weitere wichtige nutritive Stoffe stellen Hämin bzw. deren Eisen (Kesavalu et al., 2003) und Vitamin K (Grenier 1992) dar. Ein Mechanismus zur Nutzbarmachung dieser Stoffe ist die Fähigkeit zur Hämagglutination (Pike et al., 1996).

Der erste Schritt zur Besiedelung durch *P. gingivalis* stellt die Migration der Spezies in die Mundhöhle dar. Diese geschieht extraoral z. B. über den Speichel von Familienangehörigen (Asikainen et al., 1997). Zur Erreichung dieses Zieles befinden sich relativ viele Bakterien in planktonischer Phase im Speichel infizierter Personen (Mager et al., 2003). Um nicht verschluckt zu werden, bedarf es anschließend einer Retention an Hart- oder Weichgewebsstrukturen innerhalb der Mundhöhle, um von dort aus den Versuch einer Manifestation zu starten (Quirynen 1994). *P. gingivalis* kann an unterschiedlichen Strukturen adhären, welche in Tabelle zusammengefasst sind (Lamont und Jenkinson, 1997).

Da orale Oberflächen generell mit einer Pellikelschicht versehen sind, welche Moleküle aus den in Tabelle 1 genannten Strukturen enthält, bietet sich *P. gingivalis* grundsätzlich die Möglichkeit der Anlagerung. Über Membranvesikel kann *P. gingivalis* seinerseits auch das Adhäsionspotential von Streptokokken fördern, die zu den frühen Kolonisierern zählen (Kamaguchi et al., 1995, Sharma et al., 2000). Die zahlenmäßige Ausbreitung erfolgt über Proliferation und Streuung innerhalb der Mundhöhle. Hohe Proliferationsraten können jedoch nur unter günstigen Bedingungen zustande kommen, die bei parodontal gesunden Personen zunächst nicht vorhanden sind. Zum Beispiel gestaltet sich bei diesen der Zugang zu wichtigen nutritiven Stoffen wie dem Hämin recht schwierig. Zwar kann auch bei parodontal Gesunden *P. gingivalis* isoliert werden (Hamlet et al., 2001), dies jedoch bei geringer Quantität, so daß sich



Entzündungen nicht einstellen. Die Anheftung begünstigt grundsätzlich jedoch Stoffwechsel und interzelluläre Signalvorgänge bei der Interaktion mit anderen Bakterien (Kolenbrander et London, 1993).

**Tabelle 1: Adhärenzrezeptoren von *P.gingivalis***

Speichel/Sulkusflüssigkeit	Zell- und Matrixkomponenten des Wirtes	Andere Mikroorganismen
Prolinreiche Proteine u. Glykoproteine	Epithelzellen	Streptococcus spp.
Statherin	Fibroblasten	Actinomyces spp.
Histatin	Laminin	Fusobacterium nucleatum
Lysozym	Fibrinogen	Tanerella forsythensis
Lactoferrin	Fibronectin	Capnocytophaga spp.
	Kollagen	Treponema denticola
	Erythrozyten	Veillonella spp.

Die eigentlichen Anbindungsstrukturen stellen dabei Fimbrien mit einer Länge von 0,3 bis 3 µm dar. Die Hauptgruppe der Fimbrien besteht aus einer 41 bis 49 kDa großen Untereinheit, dem Fimbrillin (Lee et al., 1991) bzw. 40 und 50 kDa (Sojar et al., 2002). Neben Fimbrillin scheinen jedoch auch andere Adhäsine *P. gingivalis* in die Lage zu versetzen, sich an verschiedene Strukturen zu binden (Tokuda et al., 1996). Insgesamt zeigen Proteinsequenzanalysen keine signifikante Ähnlichkeit zwischen Fimbrien von *P. gingivalis* und Fimbrien anderer Bakterien, wodurch sie eine eigene Gruppe darstellen (Dickinson et al., 1988).

Neben der Hauptfimbriengruppe (Majorfimbrien) wurden kürzere Minorfimbrien, deren Untereinheiten sich vom Fimbrillin unterscheiden entdeckt. Dabei handelt es sich um ein 67 kDa großes Protein (Hamada et. Al., 1996) sowie eine 72 kDa große Struktur genannt Pg-II (Ogawa et. al., 1995). Die Funktionsweisen dieser Strukturen sind jedoch noch nicht hinreichend geklärt (Lamont et al., 2002).

Die Entschlüsselung des genetischen Codes für *P. gingivalis* W38 ist seit 2003 vollzogen (Institute of Genome Research, Maryland, USA). Die DNA bestehend aus 23000 Basenpaaren steht der Wissenschaft zur Verfügung und wird in den kommenden Jahren hilfreich bei der Klärung vieler offener Fragestellungen sein können.

Vor dem Hintergrund der Bedeutung der Plaque bei der Entstehung von Parodontitiden und Karies kommt es dem restaurativ tätigen Zahnarzt zu, ein Augenmerk darauf zu verwenden, durch sein Handeln der Plaqueakkumulation keinen unnötigen Vorschub zu leisten. Ein möglichst hohes Maß an Hygienisierbarkeit soll unter Vermeidung unnötiger Nischen (z.B. bei überkonturierten Füllungen oder Kronen, bei Randspalten oder mangelnder Zugänglichkeit bei Brücken) durch eine durchdachte Formgestaltung gewährleistet werden. So läßt sich beobachten, daß man im Bereich subgingivaler Füllungen mehr Entzündungen vorfindet als bei unbehandelten Zähnen (Waerhaug, 1975) und ein Rückgang der Gingivitis/Parodontitis schon nach Beseitigung überstehender Füllungsråder feststellbar wird (Gorzo et al., 1979, Jansson et al., 1997).

Neben der Formgebung spielt das verwendete Material eine Rolle. Dabei ist zu unterscheiden zwischen chemischen und oberflächenmorphologischen Eigenschaften.

Unterschiedliche Füllungsmaterialien weisen natürlich auch eine unterschiedliche Oberflächenmorphologie auf. Während keramische oder metallische Materialien durch Glanzbrand und Politur eine nahezu geschlossene, ebene Oberflächengestaltung ermöglichen, ergibt sich bei Zement und Kompositmaterialien auch bei hohem Ausarbeitungsaufwand durch ihre Körnigkeit eine mehr oder minder starke Rautiefe. Diese vergrößert einerseits einer sich bildenden Pellikelschicht die Oberfläche, erhöht damit den Bakterien die Zahl der möglichen Bindungsstellen und bietet andererseits Mikroorganismen einen stärkeren Schutz vor mechanischen Abzugskräften.

Ebenfalls gilt zu beachten, daß die Verwendung von plastischen Füllungsmaterialien in der Regel kein reguläres Bearbeiten der Oberfläche in Approximalräumen ermöglicht, so daß unter Verwendung von Matrizen, Keilen und Schleifbändern etc. andere Oberflächenreliefs entstehen.

Einen weiteren Gesichtspunkt stellt die Randspaltproblematik dar.

Die verschiedenen Füllungstherapiearten haben unter Einfluß von Sorgfalt und Geschick des Behandlers unterschiedlich große Randspalten zwischen Zahnhartsubstanz und Restauration zur Folge. Dieser Raum soll bei nichtplastischen Füllungen durch Zement- oder Kompositmaterialien gefüllt werden und bildet somit eine neue Oberflächenstruktur.

Als chemische Wirkungsfaktoren können Diffusionsstoffe wie Ionen, Monomere oder speziell zu diesem Zwecke zugesetzte Fluoride den dentalen Werkstoffen entweichen, und einen Einfluß auf den Bakterienstoffwechsel nehmen. Dieser Einfluß kann wachstumsfördernd, -hemmend oder inert sein (Welker et al., 1984).

### 3. Ziele der Arbeit

Plaque lagert sich an unterschiedlichen dentalen Werkstoffen auch unterschiedlich stark und unterschiedlich schnell an (Waerhaug, 1975). Dieses wird klinisch und durch In-vivo- sowie In-vitro-Versuchen auch immer wieder bestätigt (Hyypra et al., 1977, Einwag et al., 1990, Hahn et al., 1993, Ausschill et al., 2002). Moderne Analysemethoden ermöglichen die Aufschlüsselung der Plaquezusammensetzung von In-vivo gewonnenen Plaqueproben (Eick und Pfister 2002). Auf diese Weise können auch schwer oder gar nicht im Kulturverfahren anzüchtbare Bakterien in einer Plaqueprobe nachgewiesen werden. Eine spezifische Betrachtungsweise der Plaque ist dadurch möglich (Goodson et al., 2001).

Andere Untersuchungen stellen In vitro-Versuche mit isolierten Keimen und verschiedenen Prüfkörpern diverser Stoffgruppen an (Skjörland et al., 1973, Skörland et al., 1976, Chan et al., 1986, Satou et al., 1988, Einwag et al., 1990, Steinberg et al., 1999, Tanner et al., 2000, Großner-Schreiber et al., 2001). So konnte das Anlagerungsverhalten gerade der Keime erforscht werden, die als besonders pathogen erachtet werden. Bei diesen handelt es sich in der Regel um fakultative Aerobier aus der Gruppe der Mutansstreptokokken, welche hauptsächlich für das Entstehen von Karies verantwortlich gemacht werden (Hamada et al., 1996, Shahal et al., 1998, Grossner-Schreiber et al., 2001) und die auch prozentual den größten Anteil der supragingivalen Plaque bilden (Kamaguch et al., 1995, Carlen et al., 1996). Für die parodontitisauslösenden, Bakterien der subgingivalen Plaque liegen bislang nur vergleichsweise wenige In-vitro-Untersuchungen vor (Somerman et al., 1985, Cook et al., 1998). Ursachen dafür sind die größere Empfindlichkeit gegenüber Umweltfaktoren sowie eine geringere Wachstumsgeschwindigkeit verglichen mit anderen Mundkeimen.

Die vorliegende Arbeit will zur Aufklärung der noch in vielerlei Hinsicht unbekannten Verhaltensweisen bei der Anlagerung der subgingivalen Plaque beitragen. Am Beispiel von *Porphyromonas gingivalis*, dem wichtigsten Keim bei aggressiver Parodontitis (Yano-Higuchik et al., 2000), soll dessen Adhärenzverhalten gegenüber einigen der wichtigsten auch bis in den subgingivalen Bereich einzusetzenden Füllungsmaterialien getestet werden.

Um dies zu erreichen, sollte eine Versuchsanordnung entwickelt werden, die es ermöglicht, langsam wachsende obligate Anaerobier über einen längeren Zeitraum In-vitro zu kultivieren. Die Anlagerung erfolgte an genormte Probekörper aus dentalen Werkstoffen. Der erhoffte Erkenntnisgewinn soll dem Praktiker für die Auswahl dentaler Werkstoffe, z.B. bei Parodontitis-Risikopatienten, neue Gesichtspunkte liefern.

## **4. Material und Methoden**

### **4.1 Erwartungen an den Versuchsaufbau**

Das Anlagerungsverhalten der anaeroben Keime wurde über einen Zeitraum von mehreren Tagen beobachtet. Grund dafür war die langsame Wachstumsgeschwindigkeit von *Porphyromonas gingivalis*, verglichen mit anderen Plaquekeimen. Ebenso steigt mit der Dauer des Versuchs die Vergleichbarkeit mit der Mundhöhle, da dort die Bakterien natürlich über große Zeiträume wirken. Damit mußten Voraussetzungen geschaffen werden, die Ernährung der Bakterien über den angestrebten Zeitraum sicher zu stellen. Ein stehendes System ist nur bei einer sehr geringen Bakterienwachstumsrate dazu in der Lage. Erforderlich war somit die Möglichkeit der Nahrungsmittelzufuhr durch ein zumindest teilweise fließendes System (dynamisches System). Dieses bietet auch die Möglichkeit des Abtransportes eventuell inhibitorisch wirkender Stoffwechselprodukte.

Verschiedene Vorversuche haben gezeigt, daß die Oberflächeneigenschaften eines Werkstoffes gute Anlagerungsmöglichkeiten bieten können, obwohl das Material möglicherweise einen hemmenden Einfluß auf die Wachstumsrate der Bakterien aufweist. Diese interessante Entdeckung verlangte eine Untersuchung beider Parameter und eine anschließende Gegenüberstellung, um so ein besseres Verständnis für die In-vivo-Vorgänge zu bekommen.

## 4.2 Versuchsaufbau (Dynamisches System)

Das Kernstück der Anlage besteht aus einer autoklavierbaren Kunststoffkammer. Diese ist befähigt, eine Teflon-Scheibe aufzunehmen, welche mit den Prüfkörpern beschickt wird.



**Abb.1 Kammer, geschlossen**



**Abb. 2 Kammer, geöffnet**



**Abb.3 Versuchsaufbau bei geöffneter Kammer**

Vier Werkstoffproben sitzen in kreisrunden Vertiefungen von 10 mm Durchmesser und lassen somit eine Kreisfläche pro Prüfkörper unbedeckt, an welche die Bakterienanlagerung stattfinden soll. Die Kammer stellt ein geschlossenes System dar und ist im verriegelten Zustand mit der Außenwelt nur über zwei sich gegenüberliegenden Anschlussstutzen verbunden, durch welche ein Nährmedium zu- bzw. abfließt. Dieses befindet sich in einer Infusionsflasche und kann über ein Bluttransfusionsbesteck (Transfusionsgerät für Beuteltransfusion, Fa B. Braun Melsungen AG) der Kammer zur Verfügung gestellt werden. Der Abfluß erfolgt über ein Schlauchsystem (Heidelberger Verlängerung, 75 cm, Fa. B. Braun Melsungen AG)) in ein Auffanggefäß.

#### 4.2.1 Vorbehandlung der Prüfkörper

Bei den verwendeten Materialien handelt es sich um jeweils einen Vertreter der gängigen Werkstofftypen für die Füllungstherapie, die auch subgingival zum Einsatz kommen.

**Tabelle 2: Verwendete Werkstoffe**

Werkstofftyp	Produktname	Hersteller
Amalgam	Amalcap	Vivadent, Ellwangen
Komposit	Tetric	Vivadent, Ellwangen
Glasionomerzement	Ketac Fil	3MEspe, Seefeld
Gold	Bio Maingold SG	Hereaus Kulzer, Hanau
Keramik	IPS-Empress ( Empress I )	Ivoclar, Schaan/ Lichtenstein

Die Prüfkörper wurden im Falle der plastischen Füllungsmaterialien entsprechend der Herstellerangaben verarbeitet und auf der autoklavierten Teflonscheibe appliziert. Die Oberflächenbehandlung erfolgte mit Hartmetallfräsern und Diamantschleifern, um die Werkstoffoberflächen auf das Niveau der Teflonscheiben einzukürzen. Der Feinschliff erfolgte mit Schleifscheiben (Supersnap, Shofu) bis zur feinsten Stufe, bis subjektiv eine homogene, glatte Oberfläche entstand. Diese sollte einer in der Zahnarztpraxis sorgfältig behandelten Füllungsoberfläche vergleichbar sein. Für die Anfertigung von Gold- und Keramikprüfkörpern, mußten zunächst Wachsmodellationen erstellt werden, die anschließend in den entsprechenden Werkstoff zu überführen waren.

Nach weitgehender Keimfreimachung durch Desinfektion (20 min in 70%-igem Ethanol) wurde die Teflonscheibe mitsamt den Prüfkörpern einer Werkstoffgruppe in ein Becherglas mit künstlichem Speichel eingelegt und verblieb dort über den Zeitraum einer Woche. Einerseits sollte sich hierbei eine Pellikelschicht bilden, an die die Mikroorganismen binden konnten, andererseits sollten von den Materialien die direkt nach der Herstellung leicht in Lösung gehenden Bestandteile wie Restmonomere oder Fluoride abgegeben werden



#### 4.2.2 Künstlicher Speichel

Zur Anwendung kam ein synthetischer Speichel (Böning, 1987), um eine gleichbleibende Zusammensetzung zu gewährleisten, sowie das Risiko einer Fremdkeimkontamination zu minimieren.

##### Speichelbestandteile nach Böning:

Muzin	4.000 g
Natriumhydrogencarbonat	1.200 g
Kaliumchlorid	1.200 g
Dikaliumhydrogenphosphat	0.340 g
Kaliumthiocyanat	0.100 g
Magnesiumchloridhexahydrat	0.050 g
Caliumchloriddihydrat	0.113 g
Harnstoff	0.300 g
Harnsäure	0.050 g
Aqua dest.	1000 ml

Der Speichel wurde steril gefiltert und in Einzelportionen abgefüllt bei –20°C gelagert.

#### 4.2.3. Keimsuspension

15 ml eines Gemisches aus Schaedler-Bouillon (Hirn-Herz-Bouillon, Fa. Oxoid, Basingtoke, UK) und sterilen Hammelblutes (10:1) wurde auf zwei Reagenzgläser gleichmäßig verteilt. In ein Reagenzglas erfolgte dann die Hinzugabe von 1 ml Schaedler-Bouillon. Diese Schaedler-Bouillon war vorher mit Hilfe einer kalibrierten Öse mit *P. gingivalis* ATCC 33277 beimpft worden (Mc Farland Standard 6). Der Keim stammte von einem immer am Vortage beimpften festen Nährmedium (Schaedler-Agar, Fa. Oxoid mit 8 % Schafblut). Damit wurde gewährleistet, daß sich die Bakterien bei Versuchsbeginn in der logarithmischen Wachstumsphase befinden.

Die Reagenzien standen nun 24 Stunden, so daß es zu weiterer Zellproliferation kam. Die Ausgangskeimsuspension entstand durch das Zusammenbringen der beiden Reagenzglasinhalte in einem Becherglas. *Porphyromonas gingivalis* lag nun in hoher Teilungsbereitschaft innerhalb des wässrigen Nährmediums vor.

#### **4.2.4 Versuchsverlauf ( Dynamisches System)**

**1.Tag:** In die autoklavierte Kammer wurde die dem Becherglas entnommene Teflonscheibe mit den Prüfkörpern eines Materials plaziert und das System verschlossen. Die Keimsuspension, welche zuvor noch eine Volumenverdoppelung durch einen weiteren Nährlösungszusatz erfahren hatte (siehe 4.2.3), wurde zupipettiert. Das Kammerinnenvolumen sollte komplett ausgefüllt sein, damit das Anaerobierwachstum nicht durch Luftsauerstoff inhibiert werden konnte oder Prüfkörperanteile von Keimen unbedeckt blieben. Die anschließend verschlossene Kammer stand so 24 Stunden bei 37 °C.

**2.Tag:** Nach dem Anschluß an die Infusionsflasche wurden ca. 30 ml Nährlösung hinzugeführt, wodurch ein erster Spülvorgang auf die Prüfkörperoberfläche einwirkte. Das System stand für weitere 24 Stunden.

**3.Tag:** Ca. 170 ml Nährlösung wurden durch die Apparatur geleitet.

**4.Tag:** 500 ml NaCl-Pufferlösung mit einer Fließgeschwindigkeit von ca. 100 ml/min durchspülten die Kammer. Anschließend wurde die Kammer geöffnet, die Teflonscheibe entnommen und die Prüfkörper durch in der Scheibe befindliche Bohrungen herausgedrückt und in einem Reagenzglas aufgefangen. Die Auswertung konnte beginnen. Über eine Verdünnungsreihe kamen jeweils um eine Zehnerpotenz verdünnt ein Milliliter Suspension auf eine Schaedler-Agarplatte mit Kanamycinzusatz.

Letzterer sollte eventuelle Verunreinigungen durch Fremdkeime unterdrücken.

Unter anaeroben Bedingungen waren bei 37°C nach 5-7 Tagen die Kolonien auszählbar was nun durch Multiplikation mit dem Verdünnungsfaktor die Bestimmung der Gesamtkeimzahl ermöglichte

### 4.3 Versuch zum Einfluß des Materials auf die Wachstumsrate (Statisches System)

Bei dieser Untersuchung wurden Keim/Nährmediumsuspensionen mit und ohne Prüfkörper über 24 Stunden bebrütet und die Wachstumsraten anschließend miteinander verglichen. Hierbei sollte der Einfluß eventuell in Lösung gehender Bestandteile der Materialien auf das Wachstum ermittelt werden. Dieser Versuch gestaltete sich wie folgt:

Reagenzgläser wurden mit 1,5 ml Schaedler-Bouillon/Hammelblut-Suspension (10:1) beschickt. In jedes Reagenzglas erfolgte die Zugabe von jeweils einem Probekörper. Diese waren entsprechend ihres Alters in drei Gruppen eingeteilt worden.

- Gruppe 1: 2 Tage gealterte Prüfkörper
- Gruppe 2: 14 Tage gealterte Prüfkörper
- Gruppe 3: > 3 Monate gealterte Prüfkörper

Als Kontrollgruppe dienten Reagenzgläser mit dem gleichen Nährmedium ohne Prüfkörper.

Mit den Werkstoffen unterschiedlicher Altersstufen wurde der Versuch unternommen, mögliches sich veränderndes Diffusionsverhalten zu berücksichtigen.

Die so angelegten Proben verblieben 24 Stunden unverändert, um bereits zum Zeitpunkt der Überimpfung die Lösung von Werkstoffbestandteilen ermöglicht zu haben. Anschließend erfolgte die Zugabe von 10 µl Schaedler-Bouillon/Porphyromonas-gingivalis-Lösung. Letztere wurde für alle Proben einem Becherglas entnommen, um bei den zu vergleichenden Ansätzen, eine möglichst gleiche Ausgangskeimzahl zu haben. Zur Erstellung der Bakterienlösung wurden 5 ml Schaedler-Bouillon mit *P.gingivalis* (Mc Farland 6) dem Becherglas zugesetzt. Unter anaeroben Bedingungen stand das System bei 37 °C weitere 24 Stunden. Die Auswertung erfolgte wiederum durch die Bestimmung der Gesamtkeimzahl (siehe 4.2.4.).

#### **4.4 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen**

Um einen optischen Eindruck des Anlagerungsverhaltens der Mikroorganismen auf den Oberflächen zu bekommen, wurden von den kolonisierten Prüfkörpern aller Werkstoffe REM-Aufnahmen erstellt. Diese wurden im Institut für Ultrastrukturforschung der FSU Jena mit einem Rasterelektronenmikroskop (Stereoscan 260, Cambridge, Instruments Ltd., UK) durchgeführt.

Zu diesem Zwecke wurden über einen Zeitraum von 72 Stunden kolonisierte Prüfkörper ( $n = 4$  je Werkstoff) den Versuchskammern und ihren Teflonträgerscheiben entnommen und vorsichtig in PBS getaucht, um anschließend in einer Glutaraldehydlösung 10 Minuten lang fixiert zu werden. Eine Kritischpunkttrocknung erfolgte anschließend in einer aufsteigenden Alkoholreihe (je 5 min in 20, 50, 60, 70, 80, 90 % Ethanol) und schließlich in reinem Alkohol. Das Ende der Vorbehandlung stellte nach kurzer Lufttrocknung die Besputterung der Oberflächen mit einer Goldschicht dar.

#### **4.5 Statistik**

Die statistische Analyse wurde rechnergestützt unter Zuhilfenahme des Programms SPSS 11.0 erstellt. Der Mann-Whitney-Test verglich die verschiedenen Materialgruppen bezüglich ihrer Besiedelung, wobei jedes Material separat mit allen anderen verglichen wurde.

## 5. Ergebnisse

### 5.1 Dynamisches System

Die statistische Auswertung der gewachsenen Kolonien (Mann-Whitney-Test) zeigt insgesamt ein signifikantes Ergebnis. (Die Tabelle 3 zeigt die Beträge der koloniebildenden Einheiten, während der Boxplot in Abbildung 6 und 7 die Streuung innerhalb der Durchgänge darstellt.).

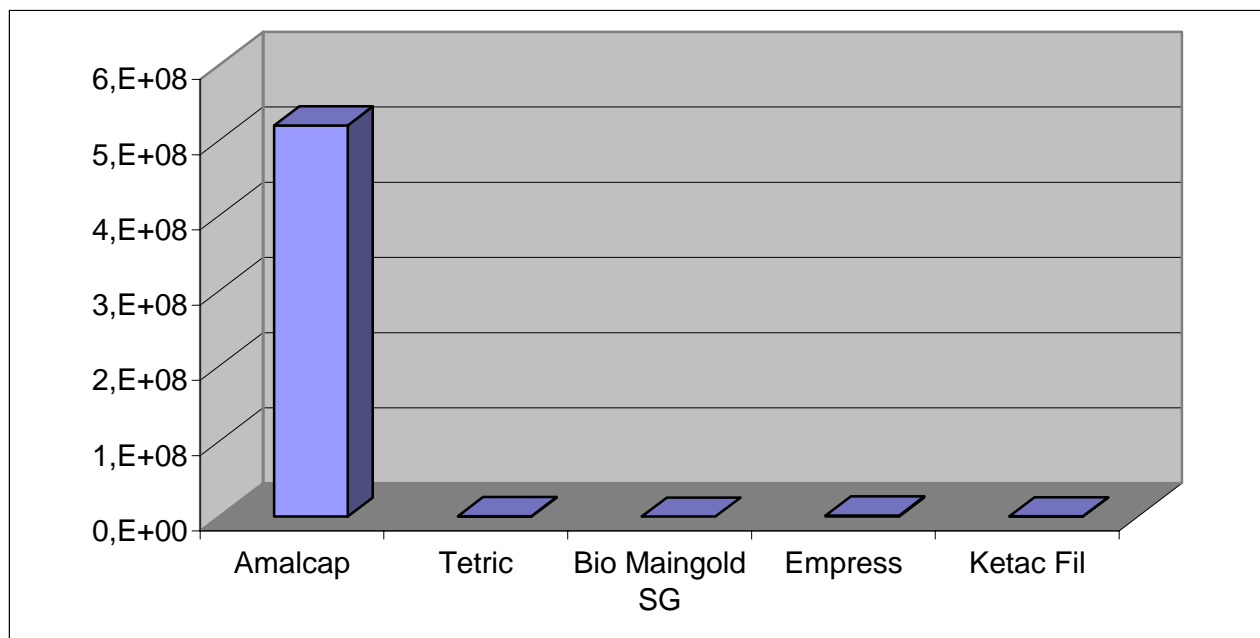
Auf Amalcap lagerten sich signifikant mehr Bakterien an als bei den Vergleichswerkstoffen (Mann-Whitney:  $p = 0,000$  bei allen Werkstoffen). Im Gegensatz dazu zeigt sich auf Bio Maingold SG ein deutliches Minderwachstum. In der Mehrzahl der Fälle waren überhaupt keine vitalen Keime nachweisbar (Mann-Whitney:  $p = 0,000$  bei allen Werkstoffen). Die Werkstoffe Ketac Fil, Tetric und Empress unterschieden sich, jedoch nicht signifikant ( $p < 0,05$ , siehe Tabelle 4).

**Tabelle 3: Koloniebildende Einheiten (KbE) von *Porphyromonas gingivalis* je Werkstoff**

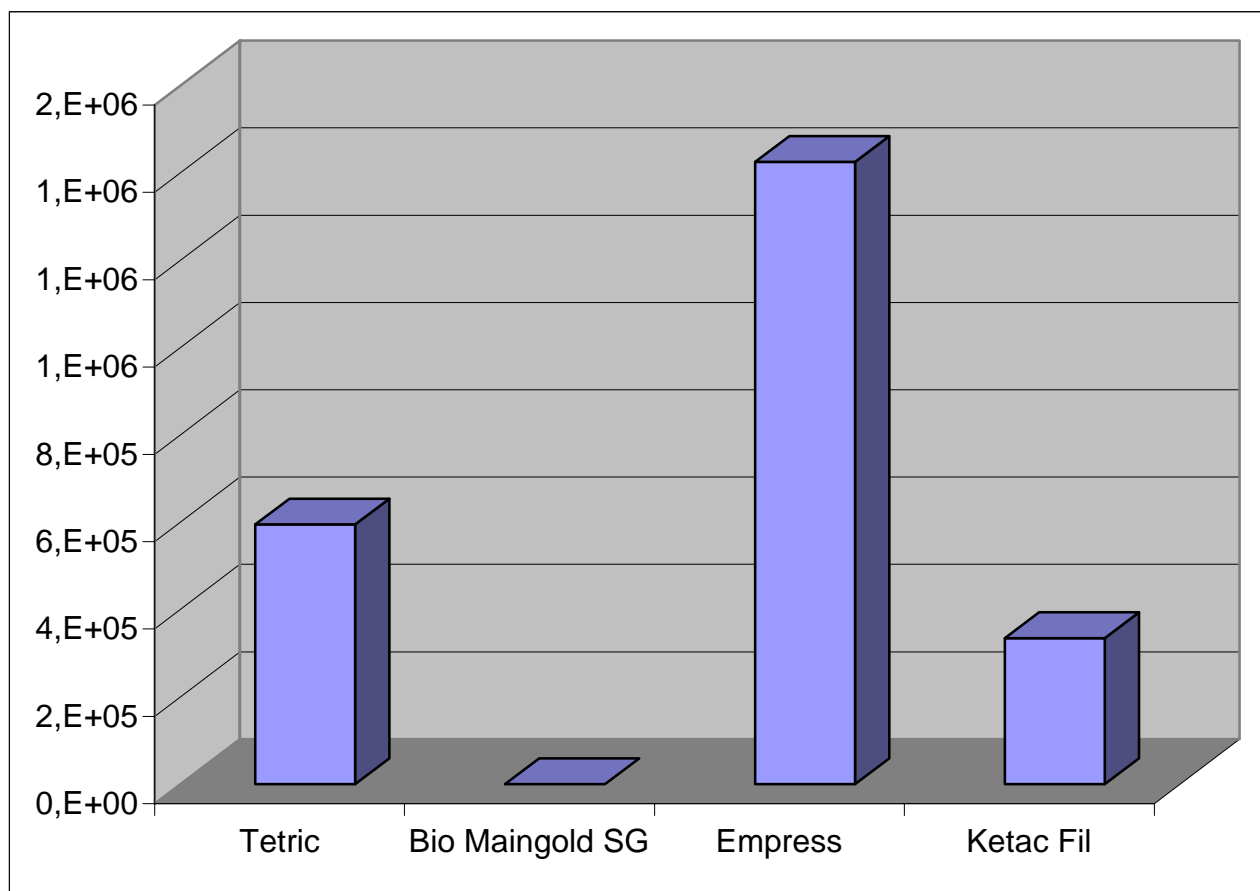
Werkstoff	Amalcap	Ketac Fil	Tetric	Empress	Bio Maingold SG
n	24	23	38	52	44
Median	$52 \times 10^7$	$33,5 \times 10^4$	$59,5 \times 10^4$	$14,3 \times 10^5$	0
Mittelwert	$47 \times 10^7$	$23 \times 10^6$	$53 \times 10^6$	$18 \times 10^6$	$54,2 \times 10^4$
Standard-abweichung	$29,3 \times 10^7$	$59,2 \times 10^6$	$13,6 \times 10^7$	$35,8 \times 10^6$	$18,2 \times 10^5$
Minimum	$61 \times 10^5$	$16 \times 10^2$	0	0	0
Maximum	$80 \times 10^7$	$24,2 \times 10^7$	$62,4 \times 10^7$	$58 \times 10^6$	$80 \times 10^5$

**Tabelle 4: Signifikanzwert „p“ für die Besiedelungsraten auf je zwei Werkstoffen im Vergleich**

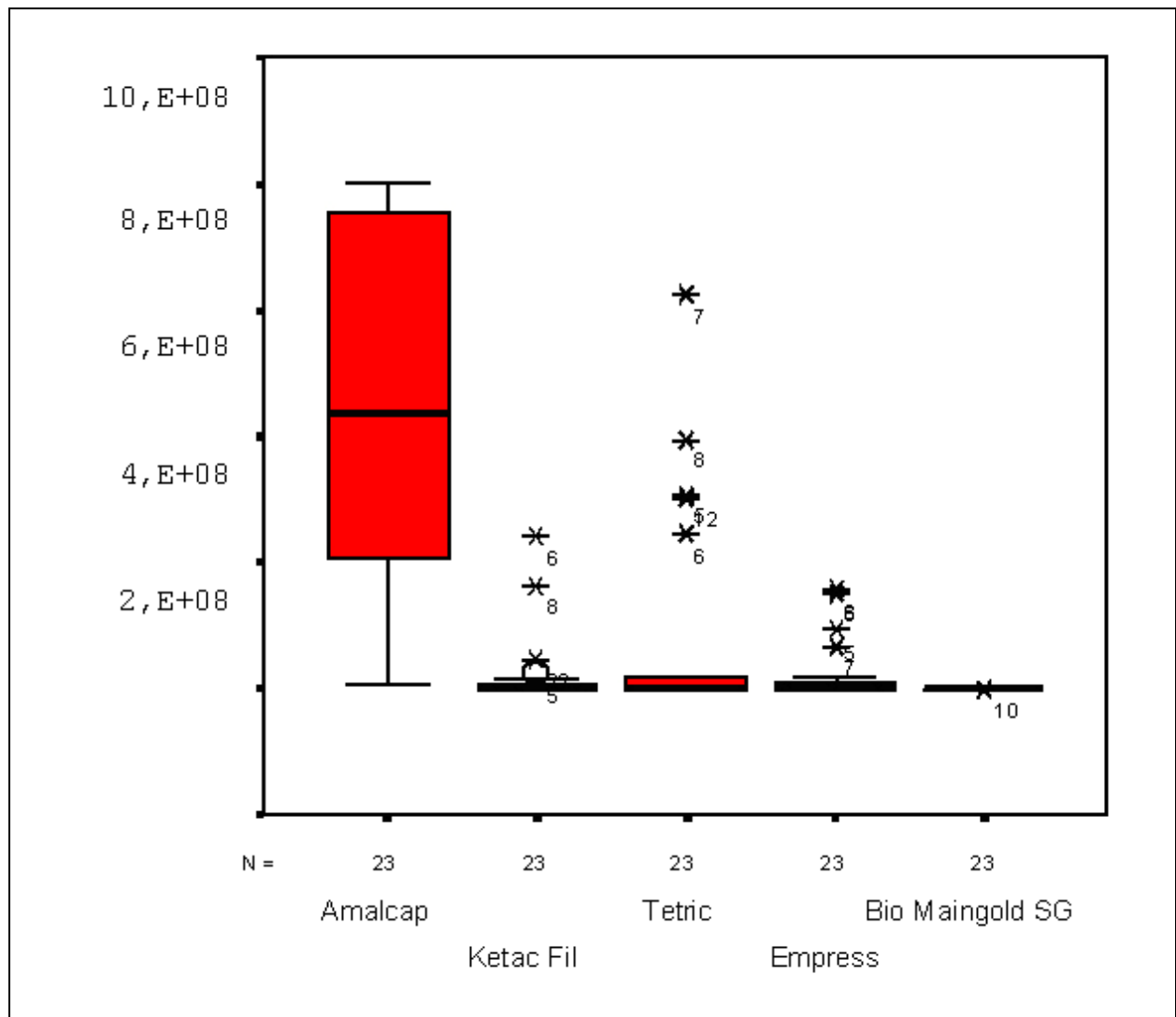
p=	Amalcap	Ketac Fil	Tetric	Empress	Bio Maingold SG
Amalcap	-	0,000	0,000	0,000	0,000
Ketac Fil	0,000	-	0,743	0,138	0,000
Tetric	0,000	0,743	-	0,253	0,000
Empress	0,000	0,138	0,253	-	0,000
Bio Maingold SG	0,000	0,000	0,000	0,000	-



**Abb. 4 Medianwerte der kolonienbildenden Einheiten (KbE) von *Porphyromonas gingivalis* auf verschiedenen Werkstoffen**

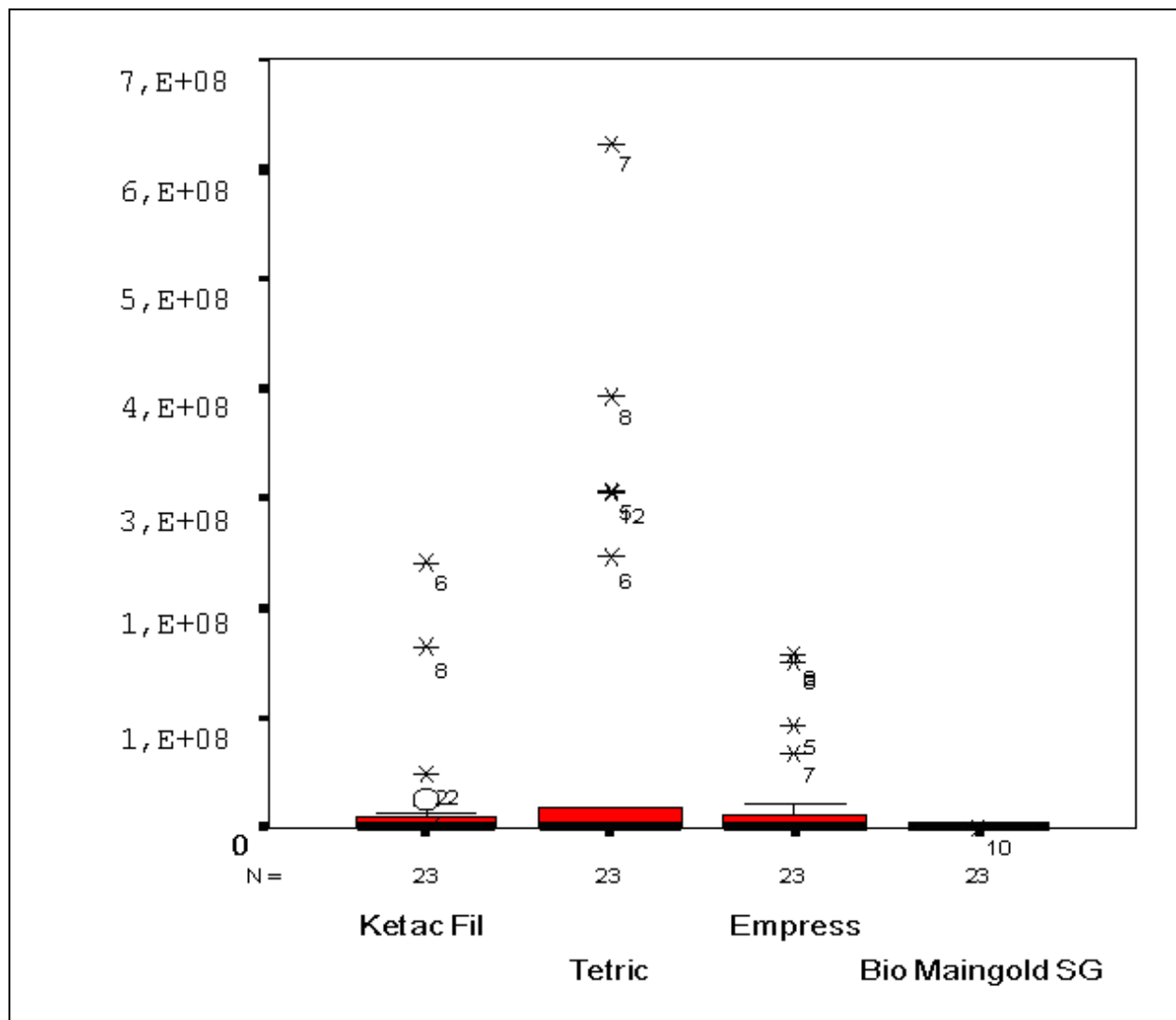


**Abb. 5 Medianwerte der kolonienbildenden Einheiten (KbE) von *Porphyromonas gingivalis* auf verschiedenen Werkstoffen (ohne Amalcap)**



**Abb. 6 Vergleich der Kolonienbildende Einheiten (KbE) auf verschiedenen Werkstoffen im Boxplot**





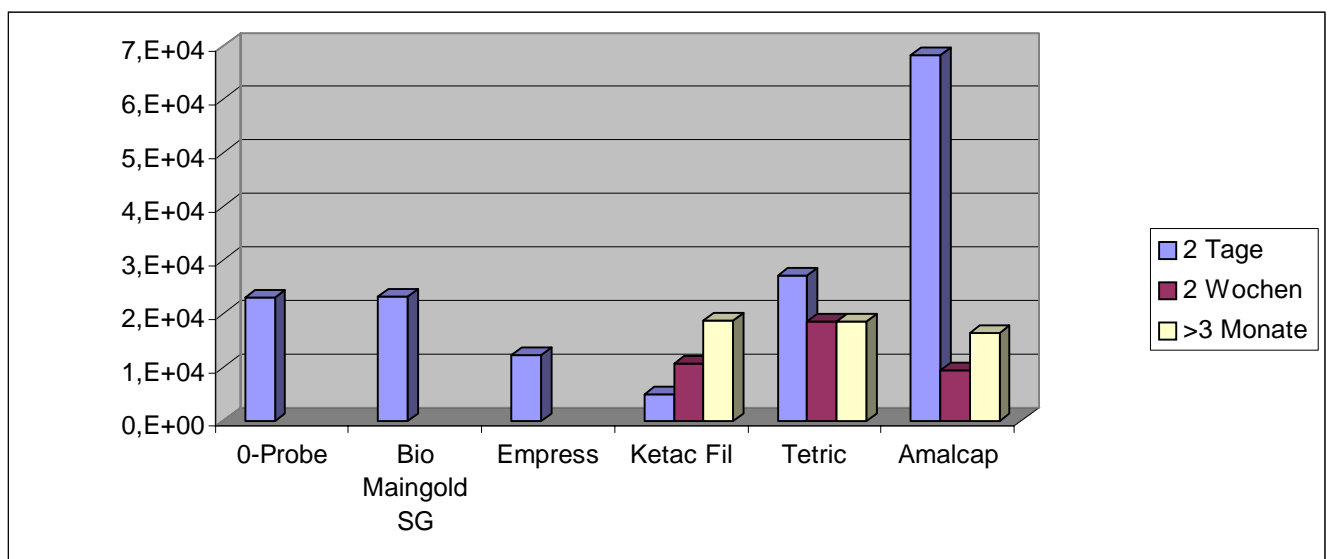
**Abb. 7 Vergleich der Kolonienbildende Einheiten (KbE) auf verschiedenen Werkstoffen im Boxplot ohne Amalcap**

## 5.2 Statisches System

Der Vergleich der Keimzahlen in den Reagenzgläsern mit verschiedenen Werkstoffbeigaben zeigt, daß in dieser Versuchsanordnung der Werkstoff wenig Einfluß auf das Wachstum ausübt (Abbildung 8/ Tabelle 5). Alle Proben liegen ungefähr im Bereich der 0-Probe (Keimsuspension ohne Werkstoffbeigabe). Lediglich die 2 Tage alten Amalcap-Proben zeigen eine deutliche Keimzahlzunahme, welche jedoch bei den älteren Proben nicht mehr auftritt.

Bei Ketac Fil zeigt sich ein umgekehrtes Phänomen, wobei eine Wachstumsunterdrückung durch zwei Tage alte Prüfkörper eintritt. Dieser Effekt verliert sich mit zunehmendem Alter des Werkstoffes.

Eine statistische Auswertung konnte aufgrund der Fallzahl von vier pro Werkstoffgruppe und Alter nicht stattfinden.



**Abb. 8 Medianwerte der kolonienbildenden Einheiten (KbE) auf verschiedenen Werkstoffen in Abhängigkeit von der Zeit**

**Tabelle 5: Koloniebildende Einheiten (KbE) von *Porphyromonas gingivalis* auf verschiedenen Werkstoffen**

Werkstoff	Median	Minimum	Maximum	n	Standardabweichung
0-Probe	$23,1 \times 10^3$	10056	52000	4	19645,4988
Amalcap 2T	$68,3 \times 10^3$	24233	189500	4	80841,8162
Amalcap 2 W	$9,5 \times 10^3$	3150	22500	4	9094,9802
Amalcap > 3 M	$16,4 \times 10^3$	13766	19780	4	2816,0005
Empress	$12,3 \times 10^3$	10467	14300	4	1885,6999
Bio Maingold	$23,2 \times 10^3$	14766	38833	4	11257,0429
Ketac Fil 2 T	$49,6 \times 10^2$	2140	7550	4	2786,7663
Ketac Fil 2 W	$10,6 \times 10^3$	8750	12033	4	1372,2673
Ketac Fil >3 M	$18,7 \times 10^3$	12450	26633	4	5885,0181
Tetric 2 T	$27,1 \times 10^3$	6800	54500	4	22622,4814
Tetric 2 W	$18,5 \times 10^3$	8650	36000	4	12089,1201
Tetric > 3 M	$18,4 \times 10^3$	11567	24000	4	5603,2818

### 5.3 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen

Die makro- wie mikroskopischen Betrachtungen der Prüfkörper mit ihrer bakteriellen Besiedelung erleichtern das Verstehen durch Visualisierung der Vorgänge.

Der erste Eindruck entsteht nach dem Öffnen der Versuchskammer. Es stellt sich zunächst dar, inwieweit sich ein makroskopisch sichtbarer Biofilm aus dem künstlichen Speichel, Bestandteilen des Nährmediums sowie den Mikroorganismen gebildet hat. Dieser kann in Stärke, Färbung sowie Verteilungsweise sehr unterschiedlich ausfallen.

#### IPS Empress

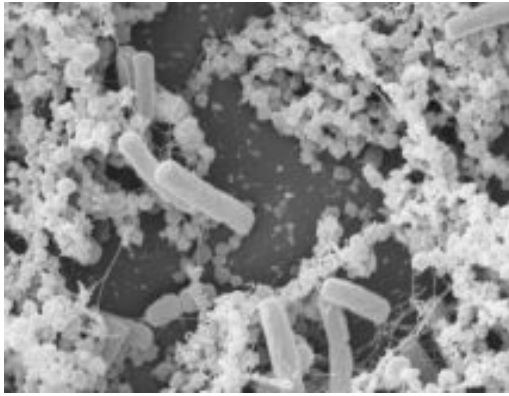


**Abb. 9 Empress, geöffnete Kammer.  
2 Prüfkörper bereits entnommen**



**Abb. 10 Empress, REM Aufnahme.  
P.gingivalis nach der Teilung  
(10000fach vergrößert)**

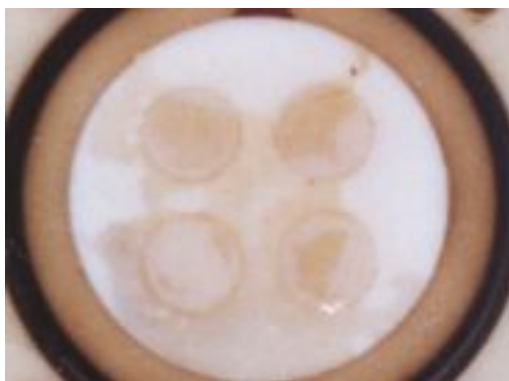
In Abbildung 9 ist eine Teflonscheibe mit keramischen Empressprüfkörpern zu sehen, wobei zwei bereits entnommen sind. Die Rotfärbung in den Entnahmestellen ist verursacht durch das Nährmedium bzw. den Bestandteil Schafblut. Auf der Scheibe und den Prüfkörpern befindet sich ein blaßgelber schwacher Niederschlag als nicht geschlossene, homogene Biofilmformation. Dieser fiel bei allen Durchläufen vergleichsweise dünner als bei den anderen Werkstoffen aus, wobei er in 100 % der Fälle deutlich von *P. gingivalis* besiedelt war. Unter dem Rasterelektronenmikroskop ist die mit Glanzbrand versehene Keramikoberfläche erwartungsgemäß als riefenfreie Oberfläche erkennbar (Abb.10). Es finden sich verschiedene Bestandteile aus der Nährlösung bzw. dem Speichel angelagert, welche jedoch nicht gleichmäßig auf den Prüfkörpern verteilt sind.



**Abb. 11 Empress, REM Aufnahme.**  
Starke Anlagerung von *P.gingivalis* und  
Bestandteilen des Nährmediums  
(2600-fach vergrößert)

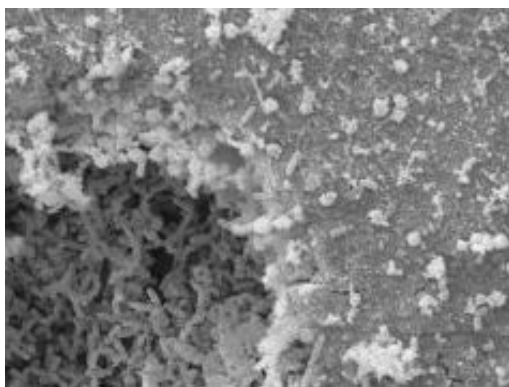
Auf Abbildung 11 ist deutlich mehr Anlagerung zu sehen als auf Abbildung 10. Derartige heterogene Verteilungsmuster sind auch bei den anderen Materialgruppen zu finden. Dafür möglicherweise verantwortliche Unterschiede der Oberflächen sind nicht erkennbar. Durch die Spülinfusion in Form von physiologischer Kochsalzlösung kann es ebenfalls zum teilweisen Ablösen des Biofilms kommen. Heterogene Verteilungsmuster finden sich jedoch auch bei ungespülten Durchgängen.

### Ketac Fil



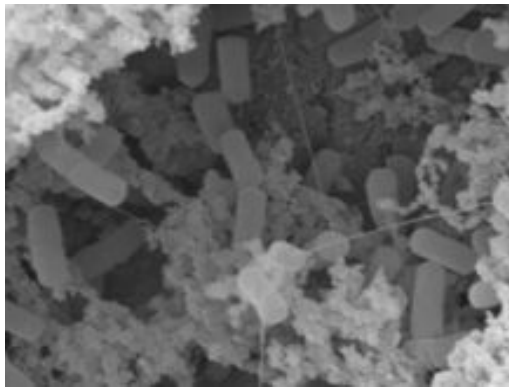
**Abb. 12 Ketac Fil, REM Aufnahme.**  
geöffnete Kammer

Nach Öffnen der Kammer der mit Ketac Fil-Prüfkörpern bestückten Teflonscheibe erscheint eine mehr oder weniger ocker bis braun gefärbte Schicht organischer Substanz. Diese bedeckt den Prüfkörper und die Trägerscheibe in scharf begrenzten Feldern. Der Eindruck, daß beispielsweise der Prüfkörper unten links in Abbildung 12 eine vergleichsweise schwächere Anlagerung aufweist, bestätigt sich im Kulturverfahren.



**Abb. 13 Ketac Fil, REM Aufnahme.**  
Stark besiedeltes Schrumpungsbläschen  
(2400-fach vergrößert)

Abbildung 13 läßt erkennen, daß unterschiedliche Oberflächen zu ebenfalls unterschiedlichem Anlagerungsverhalten führen können. Im Bildausschnitt linke untere Ecke ist ein Oberflächendefekt zu sehen, in welchem die Besiedelung mit *P. gingivalis* deutlich stärker ausfällt als auf der übrigen Oberfläche.



**Abb. 14 Ketac Fil, REM Aufnahme.**  
**Starke Biofilmformation**  
**(2500-fach vergrößert)**

### **Bio Maingold SG**



**Abb. 15 Bio Maingold SG.**  
**geöffnete Kammer**

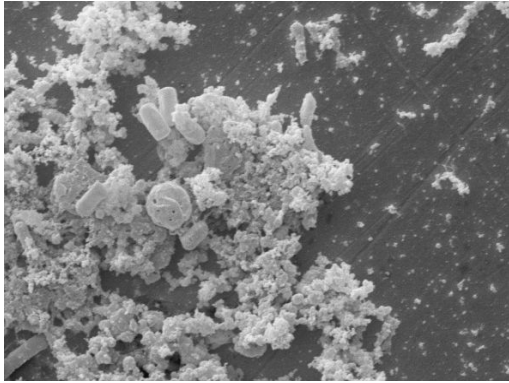


**Abb. 16 Bio Maingold SG, REM Aufnahme.**  
**Deutliche Gummipoliererriefen im Metall**  
**(11000-fach vergrößert)**

Auch auf Ketac Fil ist eine starke Adhäsion von Proteinen und *P.gingivalis* möglich. In Abbildung 14 ist bereits, deutlich dreidimensionaler Biofilm zu sehen. Eine bakteriostatische Wirkung durch freigesetzte Fluoride, wie sie Ketac Fil zur Verfügung stellt, ist nicht erkennbar.

Nach Öffnen der Kammer erscheint die mit Biomaingold SG beschickte Teflonscheibe mit schwach bräunlich pigmentierter, heterogen verteilter Ablagerung. Sie kann schwächer, aber auch stärker ausfallen als in Abbildung 15. Bei 77 % (n=44) der Durchläufe fanden sich keine vitalen Bakterien in der Biofilmformation.

Abbildung 16 zeigt *P. gingivalis* in Großaufnahme. Ein Bakterium befindet sich kurz nach dem Teilungsvorgang. Deutlich sind Riefen, entstanden durch die Oberflächenbearbeitung mit Gummipolierern zu sehen, wobei ein Zusammenhang zur Keimadhäsion nicht erkennbar ist. Außerdem sind organische Substanzen aus der Nährlösung bzw. dem Speichel auf der Oberfläche angelagert.

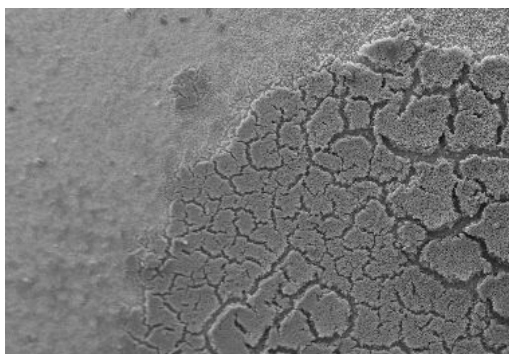


**Abb. 17 Bio Maingold SG, REM Aufnahme (1400-fach vergrößert)**

### Amalcap



**Abb. 18 Amalcap, geöffnete Kammer. Tiefschwarzes Pigment in vergleichsweise starker Schichtstärke**



Amalcap  
© Institut für Ultrastrukturforschung

200µm

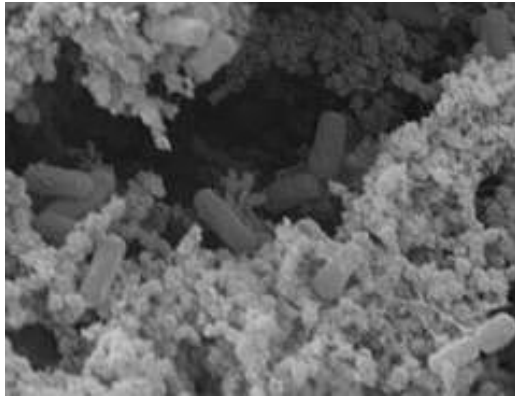
**Abb. 19 REM Aufnahme. 27-fache Vergrößerung. Randbereich von starkem zu mäßig angelagerter Oberfläche**

In Abbildung 17 ist ein Bereich mit größerer organischer Anlagerung zu sehen, der an einen deutlich anlagerungsärmeren grenzt. Innerhalb des organischen Konglomerates ist auch ein Erythrozyt zu sehen. Über die Vitalität der Keime kann anhand der Rasteraufnahme keine Aussage gemacht werden.

Auf der mit Amalcap bestückten Trägerscheibe erscheint die angelagerte Schicht deutlich stärker als bei den anderen geprüften Materialien. Farblich ist die Schwarzpigmentierung die deutlichste und kann auch noch stärker ausfallen als in Abbildung 18.

Die dicke Schicht bekommt während des Trocknungsvorganges als Vorbereitung zur Mikroskopie Risse, ähnlich einem ausgetrocknetem Flußbett. In Abbildung 19 ist dies erkennbar. Es ist ein Randbereich einer kompakten Biofilmformation dargestellt. Während des Spülvorganges kann es zu großflächigen Ablösungen der kompakten Schicht kommen. Davon abgesehen setzt offensichtlich das Bakterienwachstum nicht an allen Stellen der Prüfkörperoberflächen gleichmäßig ein.



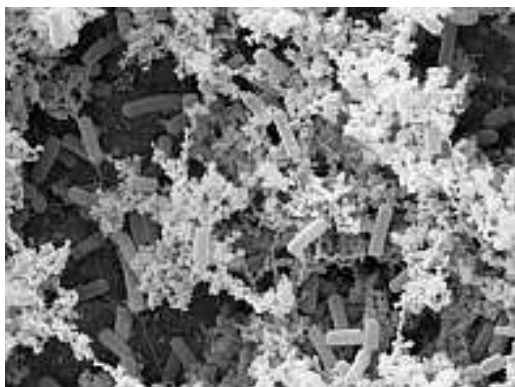


**Abb. 20 Amalcap, REM Aufnahme.  
Starke korallenriffartige Biofilmbildung  
(4000-fach vergrößert)**

## **Tetric**



**Abb. 21 Tetric, geöffnete Kammer**



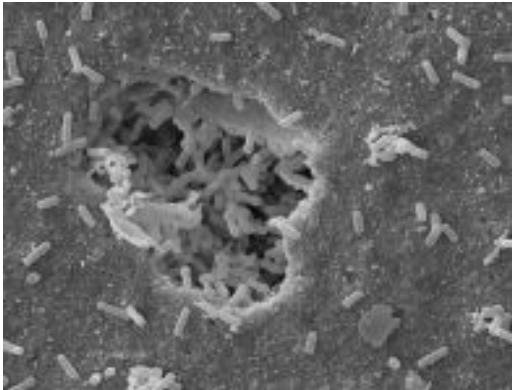
**Abb. 22 Tetric REM Aufnahme.  
Starke Biofilmbildung  
(2000-fach vergrößert)**

Abbildung 20 gewährt Einblick in eine durch den Trocknungsvorgang entstandene Spalte innerhalb des tiefen Biofilms. In allen Ebenen wird *P.gingivalis* angetroffen. Damit verbunden ist eine höhere absolute Zahl an Bakterien.

Die frisch geöffnete, mit Tetric bestückte Kammer präsentiert in der Regel einen Belag in Form einer bräunlich pigmentierten Schicht. Diese kann, wie bei den anderen Werkstoffen auch, in ihrer Farbintensität und Stärke variieren. In Abbildung 21 wird deutlich, wie heterogen das Verteilungsmuster geartet sein kann. Die Stärke der Anlagerung ist nicht assoziierbar mit der Prüfkörperposition auf der Trägerscheibe.

Abbildung 22 zeigt eine rasterelektronenmikroskopische Aufnahme mit starker organischer Anlagerung. Deutlich zu erkennen ist das dreidimensionale Netzwerk. Hierdurch wird eine Zunahme der Keimanzahl pro Fläche ermöglicht, da die Bakterien sich auch übereinander in verschiedenen Schichttiefen befinden.





**Abb. 23 Tetric, REM Aufnahme  
Schrumpfungslunker mit großer  
Keimansammlung  
(1600-fach vergrößert)**

Der *Porphyromonas gingivalis* kann sich jedoch auch ohne in der REM-Aufnahme sichtbare Brückensubstanzen auf der Werkstoffoberfläche anlagern. Nebenstehend wird dies sichtbar. Abbildung 23 zeigt eine dünn besiedelte Oberfläche.

Wie bei den Tetric Fil Prüfkörpern finden sich auch hier in Schrumpfungslunkern wesentlich größere Konzentrationen an Keimen.

## 6. Diskussion

Das Arbeiten mit *P.gingivalis* stellte sich als außerordentlich schwierig dar. Verglichen mit anderen Bakterien der Mundflora, insbesondere mit den am häufigsten untersuchten Streptokokken, wächst diese Keimart langsam und reagiert wesentlich sensibler auf ungünstige Veränderungen ihrer Umwelt. Explizite Untersuchungen zur quantitativen Besiedlung von dentalen Werkstoffoberflächen durch *P. gingivalis* sucht man bisher vergeblich. Deshalb besteht keine Möglichkeit, die Ergebnisse vorliegender Arbeit direkt mit ähnlichen Untersuchungen zu vergleichen. Eine einfache Kultivierung der Bakterien auf der Schaedler/Blut-Agarplatte unter anaeroben Bedingungen gelingt praktisch immer. Doch eine Kultivierung auf einer primär nährstofffreien Oberfläche über einen längeren Zeitraum ist mit vielerlei Schwierigkeiten verbunden. Ein wesentliches Problem stellt die Nährstoffzufuhr dar. Diese sollte mittels einer Infusion ermöglicht werden. Der Versuch, den Keim ohne Blutzusatz allein mit Schaedler-Bouillon zu ernähren, führte zum Verlust seiner Nachweisbarkeit. Sicherlich fehlten hier Eisen (Kesavalu et al., 2003) und Vitamin K (Grenier 1992). Anders sah es unter Verwendung eines Hammelblutzusatzes aus. Das zunächst verwendete Infusions-, und selbst das später eingesetzte Transfusionsbesteck setzten sich jedoch derart mit den festen Blutbestandteilen zu, daß ein langsamer, kontinuierlicher Durchfluß auch unter Verwendung eines Infusiomaten nicht ermöglicht werden konnte. Alternativ hätte die Möglichkeit bestanden, über eine enorme Erhöhung der Fließgeschwindigkeit (vergleichbar der Bluttransfusion) einen kontinuierlichen Zufluß zu ermöglichen. Dabei wäre einerseits eine unverhältnismäßig große Menge an Nährlösung erforderlich gewesen und andererseits dies mit der Situation in der parodontalen Tasche weniger vergleichbar gewesen. So entschlossen wir uns zu einem nur teilweise fließenden System, bei welchem nur im Abstand von 24 Stunden das Nährmedium zugeführt wurde.

Weiterhin zeigte sich *P. gingivalis* sehr empfindlich im Zusammenspiel mit anderen Mikroorganismen. Ein Kontakt mit Fremdkeimen durch unerwünschte Kontamination (Luftkeime) führte in der Regel zu seinem Untergang. Aus diesem Grund blieb das Gros der Versuche unter statischen Bedingungen (Statisches System) ergebnislos.

In einer Fünfjahresstudie entdeckten Cullinan et al. (2003) die Möglichkeit des Verschwindens des zuvor manifesten *P. gingivalis* bis unter die Nachweisgrenze ohne vorausgehende Therapie. Möglicherweise ist es also auch In-vivo für *P. gingivalis* trotz seiner ausgefeilten Möglichkeiten, die Wirtsabwehr zu manipulieren, mit Schwierigkeiten verbunden, die Manifestation aufrecht zu erhalten.

Ein wichtiger Teil der Überlebensstrategie stellt die Retention in der Mundhöhle als ersten Schritt zur erfolgreichen Kolonisierung derselben dar. Eine Möglichkeit ist dabei die Coaggregation mit anderen Mikroorganismen. Dabei kommt eine ganze Reihe verschiedener Spezies in Frage (siehe Tabelle 1). Der im Vorfeld dieser Arbeit angestellte Versuch, *P. gingivalis* mit *Streptococcus sanguis* als Keimgemisch zu kultivieren schlug fehl. Lamont et al. wiesen nach, daß diese Verbindung In vivo möglich ist und *P. gingivalis* dabei diese Keime nutzt, um zu adhären (Lamont et al., 1992). Onagawa et al. (1994) stellten in ihren Untersuchungen fest, daß diese Anheftung zwischen *S. sanguis* ATCC 10556 und *P. gingivalis* FDC 381, nicht jedoch mit *P. gingivalis* ATCC 33277 funktioniert. Scheinbar sind nicht alle Stämme zur Coaggregation in der Lage. Cook et al. (1998) kultivierten in vitro *P. gingivalis* zusammen mit *Streptococcus gordonii*. Die Anlagerung an eine Glasoberfläche gelang streptokokkenvermittelt erfolgreicher als ohne. Allerdings wurden die Streptokokken zeitlich eher angesiedelt und *P. gingivalis* baute auf diesen knollenartige Kolonien, die bis zu 60 µm aus dem Streptokokkenrasen ragten. Bei einer zeitweilig schwachen Besiedelung der reinen Glasoberfläche durch *P. gingivalis* wurden sie bei Auftreten von *S. gordonii* verdrängt. Auch lief dieser Versuch nur über 4 Stunden. Ein Versuchsdurchlauf vorliegender Arbeit dauert über 72 Stunden, wonach von dem Keimgemisch aus *P. gingivalis* und *Streptococcus sanguis* lediglich letzterer nachzuweisen war. Aus diesem Grunde wurde vorliegende Arbeit nicht mit einem Keimgemisch durchgeführt. Anscheinend stellt die Interaktion von *P. gingivalis* mit anderen Bakterien ein komplexes Gebilde aus sym- und antibiontischen Mechanismen dar, welches in einem bestimmten Gleichgewicht mit seiner Umwelt steht. Dieses erschwert eine In-vitro Simulation. Im Falle der Untersuchung mit *S. gordonii* (Cook et al., 1998) entzog sich *P. gingivalis* der unmittelbaren Aussetzung der Kokkenstoffwechselprodukte durch seine Turmbildung, welche ein Umspülen mit dem Nährmedium zur Folge hatte. Möglicherweise stellt bereits eine pH-Wertverschiebung, hervorgerufen durch organische Säuren als Stoffwechselprodukt der Streptokokken, einen ausreichenden inhibitorischen Effekt dar (Nagata et al., 1990, Eick et al., 1996).

Interessant ist auch die Untersuchung von Onagawa et al (1994), in der verschiedene Bakterienstämme berücksichtigt wurden. Hier coaggregierten *P. gingivalis* und *Treponema denticola*, wobei es stammabhängig war, ob *T. denticola* das Wachstum von *P. gingivalis* inhibierte. Beispielsweise verminderte *T. denticola* ATCC 35405 das Wachstum von *P. gingivalis* 16-1 moderat, von 381 stark und von 33277 gar nicht, während *T. denticola* ATCC 33521 keinen *P. gingivalis* Stamm inhibierte. Coaggregation kann jedoch auch durch andere Stoffe inhibiert werden. Als Beispiele wären hier Zucker, Aminosäuren, Chelatkomplexe und Ionen zu nennen (Grenier et al., 1987, Kinder et al., 1989, Kolenbrander et al., 1989, Nishikata et al. 1989, Nagata et al., 1990).

Socransky et al. fanden heraus, daß innerhalb des subgingivalen Biofilms verschiedene Bakterienspezies scheinbar in Lebensgemeinschaften auftreten und somit sym- bzw. antibiontische Mechanismen existieren (Socransky et al., 1998). *P. gingivalis* trat hier in Zusammenhang mit *Treponema denticola* und *Tanerella forsythensis* auf.

Im Laufe der einzelnen Versuchsreihen im dynamischen System kam es unabhängig vom verwendeten Werkstoff vor, daß ein Durchlauf ohne Keimnachweis endete. Eine Begründung ist dafür oft nicht auszumachen. Trotzdem wiesen die Versuche signifikante Unterschiede im Anlagerungsverhalten auf. Teilweise widersprachen die Ergebnisse den Erwartungen.

**Bio Maingold SG** wies eine geringe Besiedelungsrate auf. Dieses deckt sich mit den Ergebnissen bei Untersuchungen zu allgemeinen Plaquebesiedelungsraten bzw. zu In-vitro-Untersuchungen mit *S. mutans* (Einwag et al., 1990, Ausschill et al., 2002). Lang et al. (1983) untersuchten Keimspektrumverschiebungen nach Insertion von Goldonlays mit bewußt überhängend gestalteten Rändern im Approximalbereich. Nach Kultivierung von Plaqueproben stellte sich eine Keimverschiebung zugunsten der schwarzpigmentierten gramnegativen Anaerobier heraus. Hierbei scheint die Formgestaltung, also die Plaqueschenbildung, die größere Bedeutung gegenüber dem verwendeten Material aufzuweisen. Die Versuche im statischen System ließen keinen Einfluß der Werkstoffzugaben (**Bio Maingold SG**) in der Keimsuspension erkennen, wobei von geringer bzw. fehlender Ionenfreisetzung durch die Prüfkörper ausgegangen werden kann.

**Ketac Fil**, **Tetric** und **Empress** lagen im dynamischen System ungefähr gleich, wobei **Empress** zwar nicht signifikant ( $p > 0,14$ ), jedoch im Median die höchsten Keimzahlen aufwies. Auch hier wäre zu erwarten gewesen, daß Empress mit der deutlich glattesten Oberfläche weniger stark bewachsen ist (Chan et al., 1986, Hahn et al., 1993). Ein derartiges Ergebnis hatten die Arbeiten von Kawai et al. (2001) zufolge, welche mit *Streptococcus sobrinus* und ähnlichen Werkstoffen arbeiteten. Hier adhärten auf den keramischen Werkstoffen die wenigsten Bakterien, während die sonstigen Werkstoffe sich kaum unterschieden. Auch die Arbeiten von Dummer und Harrison (1982) hatten unter Verwendung von *S. mutans* die geringsten Wachstumsraten auf Keramik im Vergleich zu Amalgam, Gold und Komposit.

Im statischen System zeigte Ketac Fil bei den zwei Tage alten Prüfkörpern einen wachstumshemmenden Effekt, welcher mit zunehmendem Alter der Werkstoffe abnahm. Eick et al. stellten in einem Plattendiffusionstest mit *P. gingivalis* und verschiedenen Glasionomerzementen ein ähnliches Ergebnis fest, dieses allerdings nicht bei Ketac Fil (Eick et al., 1996). Auf den nachlassenden Effekt von inhibitorisch wirkenden Füllungsmaterialien wiesen bereits Welker et al. hin (1984).

Das Kompositmaterial **Tetric** enthält wie Ketac Fil einen Anteil an Fluoriden, um einerseits im füllungsangrenzenden Bereich die Remineralisation der Zahnhartsubstanz zu fördern und andererseits einen antibakteriellen Effekt auszuüben. Yap et al. (1999) fanden in ihrer Untersuchung letzteren Effekt nicht bestätigt, wobei dort mit *Lactobacillus casei*, *Streptococcus mutans* und *Streptococcus sobrinus* gearbeitet wurde. Auch van Dijken et al. (1991) untersuchten die Anlagerung von *S. mutans* und *Lactobacilli* an Komposit und Glasionomerzement und stellten keine signifikanten Unterschiede zur Anlagerung an der Schmelzoberfläche der Kontrollgruppe fest.

**Amalcap** als Amalgamvertreter wies im dynamischen wie statischen System signifikant die höchsten Wachstumsraten auf ( $p = 0,00$ ). Jansson et al. (1997) stellten in ihren Untersuchungen fest, daß subgingivale Amalgamfüllungen einen Risikofaktor zu erhöhter Plaqueanlagerung und zur Ausbildung einer Parodontitis darstellen. Verglichen wurden in einer In vivo-Studie gefüllte mit ungefüllten Zähnen derselben Patienten nach nichtchirurgischer Parodontaltherapie, wobei jedoch das Keimspektrum keine Berücksichtigung fand.

Das Ergebnis vorliegender Arbeit erstaunte, da andere Untersuchungen von wachstumshemmenden Effekten durch Amalgame berichten (Leon 1976, Glassman & Miller 1984, Orstavik 1985, Morrier et al., 1989, 1998, Wang & Liu 2000). Zink, Quecksilber und Kupfer als Amalgambestandteile verursachen antibakterielle Effekte (Morrier et al., 1989). Im statischen System nahm die inhibitorische Wirkung mit zunehmendem Alter der Werkstoffe ab. Paolantonio et al. (2004) untersuchten die qualitative wie quantitative Entwicklung des subgingivalen Biofilms nach Legung von Amalgam-, Glasionomierzement- sowie Kompositfüllungen und stellten Vergleiche mit ungefüllten Zähnen über den Zeitraum eines Jahres an.

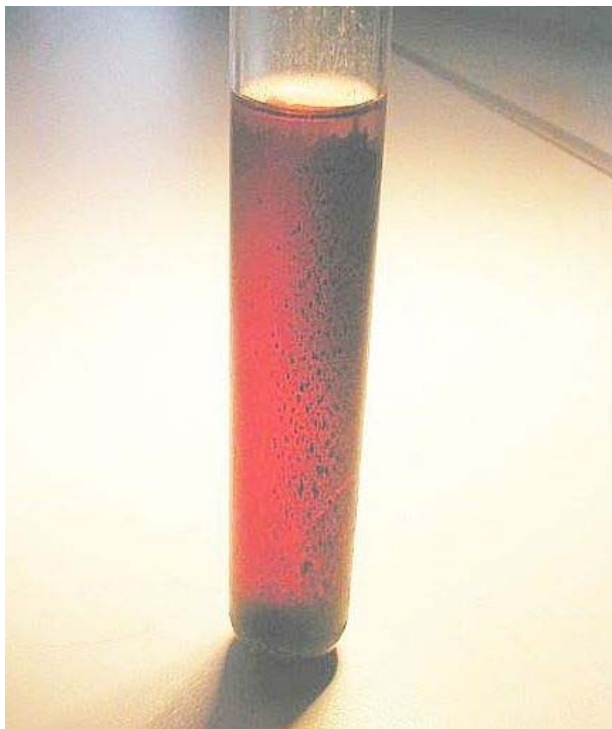
Dabei stellten sie keinen signifikanten Einfluß der verwendeten Werkstoffe auf die Parodontalgesundheit fest. Eine Verschiebung des Keimspektrums zugunsten gramnegativer Anaerobier und eine quantitative Zunahme der Gesamtplaquemenge war jedoch im Bereich des Komposites zu beobachten. Verfolgt man allerdings lediglich die Entwicklung des *P. gingivalis*, so ist auch beim Komposit keine signifikante Einflußnahme auszumachen.

Allgemein fiel auf, daß Keimwachstum auf den Prüfkörpern sich nicht homogen darstellte. Makro- wie mikroskopisch zeigten sich starke Unterschiede, die die Anlagerung von Bakterien als auch von Nährlösungsbestandteilen betraf. Zwar befanden sich alle Prüfkörper komplett eine Woche lang unter künstlichem Speichel, Aussagen über die Homogenität des künstlichen Biofilms können jedoch nicht angestellt werden. Orstavik et al. (1982) verglichen die Anlagerung von *S. mutans* auf Gold- und Zementprüfkörpern und hatten sehr unterschiedliche Ergebnisse, welche sie auf die Homo- bzw. Heterogenität des Biofilms zurückführten, die allerdings werkstoffunabhängig waren.

Die Untersuchungen von Cook et al. (1998) zeigten, daß *P. gingivalis* auch auf anderen Oberflächen als in Tabelle 1 aufgeführt adhärieren kann. In diesem Falle handelte es sich um eine Glasoberfläche. Diese Fähigkeit beobachteten wir bei der Erstellung der Keimsuspension.

*P. gingivalis* setzte sich an der Wand des Reagenzglases ab, bemerkenswerterweise nicht am Glasboden entsprechend der Schwerkraft, sondern an der Gefäßwand, welche der wärmeabstrahlenden Brutschrankwand zugewandt war (siehe Abbildung 24 und 25). Das ist umso erstaunlicher, da die Temperaturunterschiede insgesamt sehr gering sein dürften.

Diese Beobachtung zieht jedoch die Spekulation nach sich, daß *P. gingivalis* gewissermaßen aktiv adheriert, da bei 37 °C auch die Braunsche Bewegung der Flüssigkeit im Reagenzglas nicht unbedeutend sein dürfte und so wenig Zeit zum „Andocken“ bleibt. Bezüglich der Temperatur stellten Rimondia et al. eine Abnahme der Wachstums-, Proteasen- und Hämagglutinationsraten bei Temperaturanstieg auf 39 °C fest (Rimondia et al., 1999). Der Scheitelpunkt der Temperaturoptimumskurve ist demnach bei 39 °C bereits überschritten, könnte jedoch über 37°C liegen.



**Abb. 24 *P. gingivalis* adhärert an der der Wärmequelle zugewandten Seite**



**Abb. 25 Adhärirter *P. gingivalis* nach Entfernung des Nährmediums**

Verschiedene Autoren stellen bei der mikrobiellen Besiedelung die freien Oberflächenenergien der Werkstoffe sowie der Bakterien in den Mittelpunkt (Quirynen 1994, Katano et al., 1996, Radfort et al., 1999). Hierbei soll bei hoher Oberflächenenergie (hydrophiler Charakter) eine stärkere Plaqueanlagerung stattfinden als bei niedrigen (hydrophober Charakter). Jedoch wird in einigen Arbeiten bemerkt, daß nach Ausbildung des Biofilmes die Oberflächenenergien mit denen der Hartsubstanzen vergleichbar sind (van Dijk et al., 1987). Findet dennoch eine signifikant unterschiedliche Biofilmbildung statt, so scheint dieser Parameter nicht der maßgebliche zu sein (Weber et Netuschil, 1992). Interessanterweise kamen Karakecili und Gumusderelioglu (2002) in einer Untersuchung bei unterschiedlichen Bakterien zu unterschiedlichen Ergebnissen. Während *Staphylococcus epidermidis* und *Staphylococcus aureus* keine Reaktion auf veränderte freie Oberflächenspannung zeigten, sank die Anlagerungsrate von *Escherichia coli* bei Zunahme, während die von *Lactobacillus acidophilus* ebenfalls anstieg.



Die Oberflächenrauigkeit der verwendeten Prüfkörper wurde nicht untersucht. Die Bearbeitung erfolgte entsprechend den Herstellerangaben in einer sorgfältigen, jedoch auch praxisrelevanten Art und Weise. Verschiedene Untersuchungen berücksichtigen die Rauigkeiten, kommen jedoch zu unterschiedlichen Ergebnissen.

Grundsätzlich bestünde die Möglichkeit auf den verschiedenen Positionen der Teflonscheibe unterschiedliche Verhältnisse der turbulenten Strömung vorzufinden, die beim Durchfluß der verschiedenen Flüssigkeiten durch die Kammer entsteht. Damit wären die Prüfkörper unterschiedlichen Bedingungen ausgesetzt, einmal bei der Einfuhr der Keimsuspension, bei der Durchführung des nachgeführten Nährmediums und zuletzt bei der Durchspülung mit physiologischer Kochsalzlösung. Eine Erhöhung oder Erniedrigung der Keimzahlen konnte nicht mit einer bestimmten Position auf der Trägerscheibe assoziiert werden, so daß festzuhalten ist, daß die Prüfkörperposition keinen Einfluß auf Besiedelungsraten hat.

Bei den **rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen** war auffällig, daß ein Mehr an angelagerten Proteinen in der Regel auch ein Mehr an angelagerten Bakterien bedeutete. Erklärbar ist dies durch die Erhöhung der Quantität wie Qualität möglicher Bindungsstellen. So könnte die Zunahme von Blut- und Sulcusflüssigkeitsproteinen in der entzündeten Tasche bzw. am Marginalsaum die Bakterienanlagerung fördern (Rüdiger et al., 2002), wobei sich allerdings auch die Versorgung mit nutritiven Stoffen verbessert. Letzteres hat wiederum eine Erhöhung des Adhäsionspotentials zur Folge (Rüdiger et al., 2002). In der Untersuchung von Rüdiger et al. reduzierten sich interessanterweise gleichzeitig teilweise die Anzahl an Streptokokken und Actinomyceten. Fraglich ist, ob dafür der in der Zusammensetzung veränderte Pellikel oder der *P. gingivalis* verantwortlich zeichnet.

## 7. Schlußfolgerungen

Die schwierigen Kulturbedingungen des *P.gingivalis* auf Prüfkörpern sind Ursache für die geringe Anzahl der zur Verfügung stehenden Untersuchungsergebnissen insbesondere zu seiner Adhäsion innerhalb der Mundhöhle. Diese Arbeit liefert weitere Erkenntnisse, welche aus Sicht des Praktikers von Relevanz erscheinen. Dennoch muß darauf hingewiesen werden, daß es sich hier um eine In-vitro-Untersuchung mit einem isolierten Keim handelt und somit um eine Modellsituation, wie sie in vivo nicht vorkommt. Zusammenfassend stellen sich die Ergebnisse wie folgt dar:

Auf unterschiedlichen Materialien finden unterschiedlich starke Bakterienanlagerungen statt, wobei sich einzelne Materialien im Anlagerungsverhalten ähneln.

Auf Bio Maingold SG adhärieren signifikant weniger *P. gingivalis* als auf den Vergleichswerkstoffen. Dieser Aspekt stellt einen Vorteil bei der Wahl eines Füllungs/Restaurationsmaterials aus parodontologischer Sicht dar.

Auf Amalcap adhärirt signifikant mehr *P. gingivalis* als auf den Vergleichswerkstoffen. Ebenfalls fördern Diffusionsstoffe der frisch inserierten Füllung die Keimproliferation.

Amalcap scheint somit nicht das Mittel der Wahl bei Parodontitisrisikopatienten zu sein. Selbst wenn ein wachstumsfördernder Einfluß mit Verweildauer verschwände, könnte nach Füllungslegung einer bis dahin nicht stattgefundenen Manifestation des *P. gingivalis* Vorschub geleistet werden. Soll z.B. aus Kostengründen ein Verzicht auf Amalgam vermieden werden, wäre besonders auf Plaquearmut zu achten und ist gegebenenfalls eine professionelle mechanische Zahnreinigung anzuraten.

Ketac Fil, Tetric und Empress weisen eine mittlere Besiedelungsrate auf. Ein anfänglicher inhibitorischer Effekt durch Ketac Fil lässt schnell nach, so daß diese drei Werkstoffe bezüglich ihres Einflusses auf eine Besiedelung durch *P. gingivalis* unter den durchgeführten Bedingungen weder positiv noch negativ auffielen.

Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen ließen allerdings eine Besiedlungsfreudigkeit des *P. gingivalis* innerhalb von Läsionen in der Materialoberfläche wie Lunker etc. erkennen. Hierbei stellt Empress mit Glanzbrand versehener Oberfläche die günstigsten Bedingungen im Sinne einer nahezu läsionsfreien Oberfläche dar.

Allgemein ergibt sich daraus die Forderung, derartige Oberflächeninkontinuitäten (Rauhigkeiten, Porositäten, Lunker u.s.w.) so klein und gering wie möglich zu halten.

## 8. Literatur

- Abe N, Kadowaki T, Okamoto K, Nakayama K, Ohishi M, Yamamoto K, Biochemical and functional properties of lysine-specific cysteine protease (Lys-gingipain) as virulence factor of *Porphyromonas gingivalis*. *J Biochem* 1998;123:305-312.
- Al Yahfoufi Z, Mombelli A, Wicki A, Lang NP. The effect of plaque control in subjects with shallow pockets and high prevalence of periodontal pathogens. *J Clin Periodontol*. 1995; 22 ;78-84.
- Amano A, Nakagawa I, Hamada S. *Methods Enzymol*. Studying initial phase of biofilm formation: molecular interaction of host proteins and bacterial surface components. *Methods Enzymol*. 1999; 310: 501-513.
- Armitage GC: Development of a Classification System for Periodontal Diseases and Conditions. *Ann Periodontol* 1999; 4: 1-6.
- Asikainen S, Chen C, Alaluusua S, Slots J: Can one acquire periodontal bacteria and periodontitis from a family member? *J Am Dent Assoc*. 1997; 128: 1263-1271.
- Auschill TM, Arweiler NB, Brex M, Reich E, Sculean A, Netuschil L: The effect of dental restorative materials on dental biofilm. *Eur J Oral Sci*. 2002;110:48-53.
- Beck J: Zusammenhänge zwischen dem Auftreten von Parodontopathien und den Keimen *Porphyromonas gingivalis* und *Prevotella intermedia*: eine Studie an Älteren Menschen in Pflegeheimen. Aachen, Techn. Hochsch., Diss., 1997
- Beham G: IPS-Empress: Eine neue Keramik-Technologie. *Zahnärztliche Welt* 1991; 100: 404-408.
- Böning K. Die oligodynamische Wirkung ausgewählter zahnärztlicher Legierungen auf *Streptococcus mutans*. *Med. Diss Univ. Berlin*, 1987.
- Busscher HJ, de Jong HP, van Pelt AW, Arends J: The surface free energy of human dental enamel. *Biomater Med Devices Artif Organs*. 1984;12:37-49.
- Carlen A, Nikdel K, Wennerberg A, Holmberg K, Olsson J: Surface characteristics and in vitro biofilms formation on glass ionomer and composite resin. *Biomaterials*. 2001; 22: 481-487.

- Carlen A, Olsson J, Ramberg P: Saliva mediated adherence, aggregation and prevalence in dental plaque of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* and *Actinomyces* spp. in young and elderly Humans. *Arch Oral Biol.* 1996; 41: 1133-1140.
- Chan CR, Weber H: Plaque retention on teeth restored with fullceramic crowns: a comparative study. *J Prosth Dent* 1986; 56: 666-671.
- Cimasoni G, Song M, Mc Bridge B.C. Effect of crevicular fluid and lysosomal enzymes on the adherence of streptococci and bacteroides to hydroxyapatite. *Infect. Immun.*, 1987; 545: 1484-1489.
- Cook GS, Costerton JW, Lamont RJ. Biofilm formation by *Porphyromonas gingivalis* and *Streptococcus gordonii*. *J Periodontal Res.* 1998; 33: 323-327.
- Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappi-Scott HM. Microbial biofilms: *Annu Rev Microbiol* 1995; 49: 711-745.
- Cullinan MP, Hamlet SM, Westerman B, Palmer JE, Faddy MJ, Seymour GJ: Acquisition and loss of *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Prevotella intermedia* over a 5-year period: effect of a triclosan/copolymer dentifrice. *J Clin Periodontol* 2003 ;30: 532-541.
- Curtis MA, Aduse Opoku J, Rangarajan M, Gallagher A, Sterne JA, Reid CR, Evans HE, Samuelsson B: Attenuation of the virulence of *Porphyromonas gingivalis* by using a specific synthetic Kgp protease inhibitor. *Infect Immun.* 2002;70: 6968-6975.
- Cutler CW, Arnold RR, Schenkein HA. Inhibition of C3 and IgG proteolysis enhances phagocytosis of *Porphyromonas gingivalis*. *J Immunol* 1993; 151: 7016-7029.
- Dickinson DP, Kubiniec MA, Yoshimura F, Genco RJ. Molecular cloning and sequencing of the gene encoding fimbrial subunit protein of *Bacteroides gingivalis*. *J. Bacteriol.* 1988. 170: 1658-1665.
- Dummer PM, Harrison KA. In vitro plaque formation on commonly used dental materials. *J Oral Rehabil.* 1982 ; 9: 413-417.
- Eick S, Pfister W: Comparison of microbial cultivation and a commercial PCR based method for detection of periodontopathogenic species in subgingival plaque samples. *J Clin Periodontol.* 2002; 29: 638-644.

- Eick S, Welker D, Böhland A, Prössel A, Pfister W, Straube E: Effekt von Glasionomerwerkstoff-Eluaten auf ausgewählte Spezies der Mundflora. *Swiss Dent* 1996; Nr.9.
- Einwag J, Ulrich A, Gehring F. In vitro Plaqueanlagerung an unterschiedlichen Füllungsmaterialien. *Oralprophylaxe*. 1990; 12: 22-5, 27
- Ellen RP, Lepine G, Nghiem PM. In vitro models that support adhesion specificity in biofilms of oral bacteria.. *Adv Dent Res*. 1997; 11: 33-42.
- Ferreiros CM, Carballo J, Criado MT, Sainz V, del Rio MC: Surface free energy and interaction of *Staphylococcus epidermidis* with biomaterials. *FEMS Microbiol Lett*. 1989; 51: 89-94.
- Forss H, Seppa L, Alakuijala P. Plaque accumulation on glass ionomer filling materials. *Proc Finn Dent Soc*. 1991; 87: 343-350.
- George KS, Falkler WA Jr. Coaggregation studies of the *Eubacterium* species. *Oral Microbiol Immunol*. 1992; 7: 285-290.
- Goodson JM, Shoher I, Imber S, Som S, Nathanson D. Reduced dental plaque accumulation on composite gold alloy margins. *J Periodontal Res*. 2001 Aug;36: 252-259.
- Gorzo I, Newman HN, Strahan JD. Amalgam restorations, plaque removal and periodontal health. *J Clin Periodontol*. 1979; 6: 98-105.
- Grayson R, Douglas CW, Heath J, Rawlinson A, Evans GS. Activation of human matrix metalloproteinase 2 by gingival crevicular fluid and *Porphyromonas gingivalis*. *J Clin Periodontol*. 2003;30: 542-550.
- Gregory RL, Kim DE, Kindfle JC, Hobbs LC, Lloyd DR. Immunoglobulin-degrading enzymes in localized juvenile periodontitis. *J Periodont Res* 1999; 27: 176-183.
- Grenier D, Mayrand D: Functional Characterization of extracellular vesicles produced by *Bacteroides gingivalis*. *Infect Immun* 1987; 55: 115-117.
- Grenier D: Nutritional interactions between two suspected periodontopathogens, *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun*. 1992; 60: 5298-5301.
- Grossner-Schreiber B, Griepentrog M, Haustein I, Muller WD, Lange KP, Briedigkeit H, Gobel UB: Plaque formation on surface modified dental implants. An in vitro study. *Clin Oral Implants Res*. 2001; 12: 543-551.

- Hahn R, Weiger R, Netuschil L, Bruch M: Microbial accumulation and vitality on different restorative materials. *Dent Mater.* 1993; 9: 312-316.
- Hamada N, Soja H T, Cho M I, Genco R J. Isolation characterization of a minor fimbria from *Porphyromonas gingivalis*. *Infect. Immun.* 1996; 64 : 4788-4794.
- Hamlet SM, Cullinan MP, Westerman B, Lindeman M, Bird PS, Palmer J, Seymour GJ: Distribution of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia* in an Australian population. *J Clin Periodontol* 2001; 28: 1163-1171.
- Hansen MC, Palmer RJ, White DC: Flowcell culture of *Porphyromonas gingivalis* biofilms under anaerobic conditions. *J. Microbiol Methods.* 2000; 40: 233-239.
- Hyypriä T, Paunio K: The plaque-inhibiting effect of copper amalgam. *J Clin Periodontol.* 1977 Nov; 4: 231-239.
- Jansson L, Blomster S, Forsgårdh A, Bergman E, Berglund E, Foss L, Reinhardt EL, Sjöberg B: Interactive effect between marginal plaque and subgingival proximal restorations on periodontal pocket depth. *Swed Dent J.* 1997; 21: 77-83.
- Joques CG, El kaddouri S, Barthet P, Duffort JF, Arellano M.: *Fusobacterium nucleatum* involvement in adult periodontitis and possible modification of strain classification. *J. Periodontol* 2000; 71: 1144-1150.
- Kadowaki T, Yoneda M, Okamoto K, Maeda K, Yamamoto K. Purification and characterization of a novel arginine-specific cysteine proteinase (arginipain) involved in the pathogenesis of periodontal disease from the culture supernatant of *Porphyromonas gingivalis*. *J. Biol. Chem.* 1994. 269:21371-21378.
- Kamaguchi A, Baba H, Hoshi M, Inomata K. Effect of *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 vesicle on *Streptococcus mutans* OMZ 70 to the experimental pellicle. *Microbiol Immunol.* 1995; 39: 521-524.
- Karakeçili AG, Gumusderelioglu M: Comparison of bacterial and tissue cell initial adhesion on hydrophilic/hydrophobic biomaterials. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2002;13: 185-196.
- Kataoka K, Amano A, Kawabata S, Nagata H, Hamada S, Shizukuishi S. Secretion of functional salivary peptide by *Streptococcus gordonii* which fimbria-mediated adhesion of *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun.* 1999; 67: 3780-3785.

- Kawai K, Urano M: Adherence of plaque components to different restorative materials. *Oper Dent*. 2001; 26: 396-400.
- Kesavalu L, Holt SC, Ebersole JL: In vitro environmental regulation of *Porphyromonas gingivalis* growth and virulence. *Oral Microbiol Immunol*. 2003; 18: 226-233.
- Kinder SA, Holt SC: Characterization of coaggregation between *Bacteroides gingivalis* T22 and *Fusobacterium nucleatum* T18. *Infect Immun* 1989; 57: 3245-3248.
- Kinder SA, Holt SC: Localization of the *Fusobacterium nucleatum* T18 adhesin activity mediating coaggregation with *Porphyromonas gingivalis* T22. *J Bacteriol* 1993; 175: 840-850.
- Kitano T, Yutani Y, Shimazu A, Yano I, Ohashi H, Yamano Y: The role of physicochemical properties of biomaterials and bacterial cell adhesion in vitro. *Int J Artif Organs*. 1996; 19: 353-358.
- Knoernschild KL, Tompkins GR, Levebre CA, Schuster GS. *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide affinity for two casting alloys. *J Prosthet Dent*. 1995; 74: 33-38.
- Kolenbrander PE, Andersen RN: Inhibition of coaggregation between *Fusobacterium nucleatum* and *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis* by lactose and related sugars. *Infect Immun* 1989;57: 3204-3209.
- Kolenbrander PE: Adherence today, here tomorrow: oral bacterial adherence. *J. Bacteriol*. 1993 175: 3247-3252.
- Laine ML, Appelmek BJ, van Winkelhoff AJ: Prevalence and distribution of six capsular serotypes of *Porphyromonas gingivalis* in periodontitis patients. *J Dent Res*. 1997; 76 : 1840-1844.
- Lamont RJ, El-Sabaeny A, Park Y, Cook GS, Costerton JW, Demuth DR: Role of the *Streptococcus gordonii* SspB protein in the development of *Porphyromonas gingivalis* biofilms on streptococcal substrates. *Microbiology*. 2002; 148: 1627-1636.
- Lamont RJ, Hersey SG, Rosan B. Characterization of the adherence of *Porphyromonas gingivalis* to oral streptococci. *Oral Microbiol Immunol* 1992; 7: 193-197.
- Lamont RJ, Jenkinson HF. Life below the gum line: pathogenetic mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol Mol Biol Rev*. 1998; 62: 1244-1263.



- Lang NP, Kiel RA, Anderhalden K: Clinical and microbiological effects of subgingival overhanging or clinically perfect margins. *J Clin Periodontol*. 1983; 10: 563-578.
- Lee JY, Bedi GS, Genco RJ. Synthetic peptides analogous to the fimbrillin sequence inhibit adherence of *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun*. 1992; 60: 1662-1670.
- Lee JY, Sojar HAT, Sharma A, Bedi GS, Genco RJ. Active domains of fimbrillin involved in adherence of *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodont Res* 1993; 28: 470-472.
- Lee JY, Sojar HAT, Sharma A, Bedi GS, Genco RJ. *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis* fimbrillin: size, amino-terminal sequence, and antigenetic heterogeneity. *Infect. Immun*. 1991; 59: 383-389.
- Leon AR. Amalgam restorations and periodontal disease. *Br Dent J*. 1976; 140: 377-382.
- Li J, Ellen RP. Relative adherence of *Bacteroides* species and strains to *Actinomyces viscosus* on saliva-coated hydroxyapatite. *J Dent Res* 1989; 68:1308-1312.
- Listgarten MA. Structure of the microbial flora associated with periodontal health and disease in man. A light and electron microscopy study. *J Periodontol*. 1976; 47: 1-18.
- Listgarten MA. The structure of dental plaque. *Periodontol 2000*. 1994; 5: 52-65.
- Madianos PN, Papanou PN, Nannmark U, Dahlen G, Sandros J. *Porphyromonas gingivalis* FDC381 multiplies and persists within oral epithelial cells in vitro. *Infect Immun* 1996; 65: 660-664.
- Mager DL, Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS: Distribution of selected bacterial species on intraoral surfaces. *J Clin Periodontol*. 2003; 30: 644-654.
- Maneerat J. Vergleichende mikrobiologische Untersuchung der subgingivalen Plaque bei Periimplantitis und Parodontitis unter Verwendung von Immunfluoreszenz und in situ Hybridisierung. Freiburg (Breisgau), Univ., Diss 1994.
- Marsh PD, Bradshaw DJ: Dental plaque as a biofilm. *J Ind Microbiol*. 1995; 15: 169-75.
- Morrier JJ, Barsotti O, Blanc-Benon J, Rocca JP, Dumont J. Antibacterial properties of five dental amalgams: an in vitro study. *Dent Mater*. 1989; 5: 310-313.
- Nagata H, Murakami Y, Inoshita E, Shizukuishi S, Tsunemitsu A. Inhibitory Effect of Human Plasma and Saliva on Co-aggregation between *Bacteroides gingivalis* and *Streptococcus mitis*. *J Dent Res* 1990; 69: 1476-1479.

- Nagayama M, Sato M, Yamaguchi R, Tokuda C, Takeuchi H. Evaluation of co-aggregation among *Streptococcus mitis*, *Fusobacterium nucleatum* and *Porphyromonas gingivalis*. *Lett Appl Microbiol*. 2001; 33: 122-125.
- Nishikata M, Yoshimura F, Nodasaka Y: Possibility of *Bacteroides gingivalis* hemagglutinin possessing protease activity revealed by inhibition studies. *Microbiol Immunol* 1989; 33: 75-80.
- Nyarasdy I, Horczegh B, Pados R, Postenyl J. Effect of composite fillings of the marginal periodontium and on plaque formation. *Fogorv Sz* 1981; 74: 231-234.
- Ogawa T , Yasuda K, Yamada K, Mori H, Ochiai K, Hasegawa M. Immunochemical characterization and epitope mapping of a novel fimbrial Protein (PG II fimbria ) of *Porphyromonas gingivalis*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol*. 1995 11: 247-256.
- Okada M, Hayashi F, Nagasaka N. Detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in dental plaque samples from children 2 to 12 years of age. *J Clin Periodontol*. 2000; 27: 763- 768.
- Okuda K, Kato T, Ishihara K, Naito Y. : Adherence to experimental pellicle of rough-type lipopolysaccharides from subgingival plaque bacteria. *Oral Microbiol Immunol*. 1991; 6: 241-245.
- Onagawa M, Ishihara K, Okuda K.: Coaggregation between *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola*. *Bull Tokyo dent Coll* 1994; 35: 171-181.
- Orstavik J, Orstavik D, Kommisar J: Preferential affinity of oral bacteria for homologous salivary films on dental materials. *Acta Odontol Scand*. 1982; 40: 49-56.
- Page RC, Offenbacher S, Schröder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol* 2000. 1997; 14: 216-248.
- Paolantonio M, D'ercole S, Perinetti G, Tripodi D, Catamo G, Serra E, Brue C, Piccolomini R: Clinical and microbiological effects of different restorative materials on the periodontal tissues adjacent to subgingival class V restorations. *J Clin Periodontol*. 2004; 31: 200-207.
- Paolantonio M, Di Murro C, Cattabriga M. Modifications in the clinical and microbiological parameters of the periodontal tissues after the removal of overhanging class 2 amalgam fillings. *Minerva Stomatol*. 1990; 39: 697-701.

- Percival RS, Marsh PD, Devine DA, Rangarajan M, Aduse-Opoku J, Shepherd P, Curtis MA: Effect of temperature on growth, hemagglutination, and protease activity of *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun*. 1999; 67:1917-1921.
- Pike RN, Potempa J, McGraw W, Coetzer THT, Travis J. Characterisation of the binding activities of proteinase-adhesin complexes from *Porphyromonas gingivalis*. *J. Bacteriol*. 1996; 178: 2876-2882.
- Quirynen M: The clinical meaning of the surface roughness and the surface free energy of intra-oral hard substrata on the microbiology of the supra- and subgingival plaque: results of in vitro and in vivo experiments. *J Dent*. 1994; 22 Suppl 1: 13-16.
- Radford DR, Challacombe SJ, Walter JD. Denture plaque and adherence of *Candida albicans* to denture-base materials in vivo and in vitro. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1999; 10: 99-116.
- Reich E. Trends in caries and periodontal health epidemiology in Europe. *Int Dent J*. 2001; 51 Suppl 1):392-398.
- Rüdiger SG, Carlen A, Meurman JH, Kari K, Olsson J. Dental biofilms at healthy and inflamed gingival margins. *J Clin Periodontol* 2002, 29: 524-530.
- Sandros J, Papapanou PN, Nannmark U, Dahlen G. *Porphyromonas gingivalis* invades human pocket epithelium in vitro. *J Periodont Res*. 1994 ;29 :62-69.
- Satou J, Fukunaga A, Satou N, Shintani H, Okuda K. Streptococcal Adherence on Various Restorative Materials. *J Dent Res* 1988; 67: 588-591.
- Sbordone L, Bortolaia C: Oral microbial biofilms and plaque-related diseases: microbial communities and their role in the shift from oral health to disease. *Clin Oral Investig*. 2003; 7: 181-188.
- Schäfer S. Adhäsionsprüfung von Fibroblasten und Plaquebakterien auf zahnfarbenen zahnärztlichen Werkstoffen. Aachen, Techn, Hochsch., Diss., 1994.
- Scherer W, Lippman N, Kaim J. Antimicrobial properties of glassionomer cements and other restorative materials. *Oper Dent*. 1989; 14: 77-81.
- Schmalz G. The biocompatibility of non-amalgam dental filling materials. *Eur J Oral Sci*. 1998; 106: 696-706.
- Shah HN, Gharbia SE. Ecological events in subgingival dental plaque with reference to *Bacteroides* and *Fusobacterium* species. *Infection* 1989; 17: 264-268.

- Shahal Y, Steinberg D, Hirschfeld Z, Bronshteyn M, Kopolovic K. In vitro bacterial adherence onto pellicle-coated aesthetic restorative materials. *J Oral Rehabil.* 1998; 25: 52-58.
- Sharma A, Novak EK, Sojar HT, Swank RT, Kuramitsu HK, Genco RJ. *Porphyromonas gingivalis* platelet aggregation activity: outer membrane vesicles are potent activators of murine platelets. *Oral Microbiol Immunol.* 2000; 15: 393-396.
- Shibly O, Rifai S, Zambon JJ. Supragingival dental plaque in the etiology of oral diseases. *Periodontol 2000.* 1995; 8: 42-59.
- Skjorland KK. Bacterial accumulation on silicate and composite materials. *J Biol Buccale.* 1976; 4: 315-322.
- Skjörland KK. Plaque accumulation on different dental filling materials. *Scand J of dent. Res.* 1973; 81: 538-542.
- Slots J. Importance of black-pigmented *Bacteroides* in human periodontal disease. Host-parasite interactions in periodontal diseases: proc. of a symposium held, 1982, 27-45
- Socransky SS, Haffajee MA, Cugini MA, Smith C, Kent Jr. RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998; 25: 134-44.
- Sojar HT, Sharma A, Genco RJ: *Porphyromonas gingivalis* fimbriae bind to cytokeratin of epithelial cells. *Infect Immun.* 2002; 70: 96-101.
- Somerman MJ, Kagermeir AS, Bowers MR, Fox PC. In vitro attachment of bacteria to extracts of cementum. *J Oral Pathol.* 1985; 14: 793-799.
- Steinberg D, Mor C, Dogan H, Zacks B, Rotstein I. Effect of salivary biofilm on the adherence of oral bacteria to bleached and non-bleached restorative material. *Dent Mater.* 1999; 15: 14-20.
- Tanner J, Vallittu PK, Soderling E. Adherence of *Streptococcus mutans* to an E-glass fiber-reinforced composite and conventional restorative materials used in prosthetic dentistry. *J Biomed Mater Res.* 2000; 49: 250-256.
- Theilade E, Wright WH, Jensen SB, Loe H.A: Longitudinal clinical and bacteriological investigation. *J Periodontal Res.* 1966; 1: 1-13.
- Toffenett F. Interproximal amalgam fillings. A problem of the relation between conservative treatment and periodontology. *Dent News* 1987; 9: 15-6 19-20 23.

- Tokuda M, Duncan M, Cho MI, Kuramitsu H. Role of *Porphyromonas gingivalis* protease activity in colonisation of oral surfaces. *Infect Immun* 1996; 64: 4067-4073.
- Tsarev VN, Romanov AE. The species composition of the dental plaque on the surface of fillings made from different materials. *Stomatologiia Mosk.* 1995; 74: 29-31.
- van Dijk J, Herkstroter F, Busscher H, Weerkamp A, Jansen H, Arends J: Surface-free energy and bacterial adhesion. An in vivo study in beagle dogs. *J Clin Periodontol.* 1987; 14: 300-304.
- van Dijken JW, Sjöstrom S. The effect of glass ionomer cement and composite resin fillings on marginal gingiva. *J Clin Periodontol.* 1991; 18: 200-203.
- Waerhaug J. Presence or Absence of plaque on subgingival restorations. *Scand J Dent Res.* 1975; 83: 193-201.
- Weber H, Netuschil L. Biokompatibilität und Plaqueswachstum bei unterschiedlichen Restaurationsmaterialien: *Deutsch. Zahnärztl.* 1992; 47: 278-281.
- Welker D, Oering H, Erbsmehl J, Bleischwitz B: Antimikrobielle Eigenschaften zahnärztlich-restaurativer Werkstoffe. *Dtsch Zahn Mund Kieferheilk* 1984; 72: 291-304.
- Wilson M, Harvey W. Prevention of bacterial adhesion to denture acrylic. *J Dent.* 1989; 17: 166-170.
- Wu H, Fives-Taylor PM. Molecular strategies for fimbrial expression and assembly. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2001; 12: 101-115.
- Xie H, Cai S, Lamont RJ. Environmental regulation of fimbrial gene expression in *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun.* 1997; 65: 2265-2271.
- Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS: Microbial composition of supra- and subgingival plaque in subjects with adult periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2000; 27: 722-732.
- Ximenez-Fyvie LA, Haffajee Ad, Som S, Thompson M, Torresyap G, Socransky SS: The effect of repeated professional supragingival plaque removal on the composition of the supra- and subgingival microbiota. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 637-647.

- Yano- Higuchik, Takamatsu N, He T, Umeda M, Ishikawa I: Prevalence of *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis* and *Actinobacillus actinomecetemcomitans* in subgingival microflora of Japanese patients with adult and rapidly progressive periodontitis. J Periodontol 2000; 27: 597-600.
- Yap AU, Khor E, Foo SH: Fluoride release and antibacterial properties of new-generation tooth-colored restoratives. Oper Dent. 1999; 2: 297-305.
- Yoshinari M, Oda Y, Kato T, Okuda K Hirayama A: Influence of surface modifications to titanium on oral bacterial adhesion in vitro. J Biomed Mater Res 2000 Nov; 52(2):388-94.
- Zhang J, Dong H, Kashket S, Duncan MJ. IL-8 degradation by *Porphyromonas gingivalis* proteases. Microb Pathog 1999; 26: 275-280.

## Anhang

### Daten aus dem Statischen System in kbE

0-Probe	0-Probe	0-Probe	0-Probe
11550	18750	52000	10050

Empress	Empress	Empress	Empress
13400	10467	14300	10850

Bio Maingold SG	Bio Maingold SG	Bio Maingold SG	Bio Maingold SG
38833	24000	15200	14766

Amalcap 2 Tage alt	Amalcap 2 Tage alt	Amalcap 2 Tage alt	Amalcap 2 Tage alt
189500	28166	31366	24233

Amalcap 2 Wochen	Amalcap 2 Wochen	Amalcap 2 Wochen	Amalcap 2 Wochen
3150	22500	3300	8866

Amalcap > 3 Monate	Amalcap > 3 Monate	Amalcap > 3 Monate	Amalcap > 3 Monate
17700	19780	14466	13766

Ketac Fil 2 Tage alt	Ketac Fil 2 Tage alt	Ketac Fil 2 Tage alt	Ketac Fil 2 Tage alt
7150	2140	3000	7550

Ketac Fil 2 Wochen	Ketac Fil 2 Wochen	Ketac Fil 2 Wochen	Ketac Fil 2 Wochen
12033	8750	10933	10866

Ketac Fil > 3 Monate	Ketac Fil > 3 Monate	Ketac Fil > 3 Monate	Ketac Fil > 3 Monate
26633	18500	12450	17333

Tetric 2 Tage alt	Tetric 2 Tage alt	Tetric 2 Tage alt	Tetric 2 Tage alt
54500	6800	36600	10300

Tetric 2 Wochen	Tetric 2 Wochen	Tetric 2 Wochen	Tetric 2 Wochen
12967	8650	36000	16366

Tetric > 3 Monate	Tetric > 3 Monate	Tetric > 3 Monate	Tetric > 3 Monate
24000	11567	21866	16366

## Daten aus dem Dynamischen System in kbE

Amalcap			
92 x 10 <sup>6</sup>	24,9 x 10 <sup>7</sup>	23,7 x 10 <sup>7</sup>	15,2 x 10 <sup>7</sup>
61,2 x 10 <sup>7</sup>	70,2 x 10 <sup>7</sup>	80 x 10 <sup>7</sup>	82 x 10 <sup>7</sup>
20,6 x 10 <sup>7</sup>	20,5 x 10 <sup>7</sup>	61 x 10 <sup>7</sup>	65,2 x 10 <sup>7</sup>
69 x 10 <sup>7</sup>	81 x 10 <sup>7</sup>	80 x 10 <sup>7</sup>	64 x 10 <sup>7</sup>
43,6 x 10 <sup>7</sup>	27,6 x 10 <sup>7</sup>	79 x 10 <sup>7</sup>	60,4 x 10 <sup>7</sup>
78,5 x 10 <sup>7</sup>	79,5 x 10 <sup>7</sup>	22,4 x 10 <sup>7</sup>	19 x 10 <sup>7</sup>
Ketac Fill			
33,5 x 10 <sup>4</sup>	42,1 x 10 <sup>4</sup>	27,5 x 10 <sup>4</sup>	65,7 x 10 <sup>5</sup>
25,5 x 10 <sup>6</sup>	24,2 x 10 <sup>7</sup>	14,8 x 10 <sup>6</sup>	16,4 x 10 <sup>7</sup>
31,2 x 10 <sup>3</sup>	55,2 x 10 <sup>3</sup>	62,6 x 10 <sup>3</sup>	16 x 10 <sup>2</sup>
95,5 x 10 <sup>2</sup>	-	12,4 x 10 <sup>3</sup>	10,8 x 10 <sup>4</sup>
42,9 x 10 <sup>3</sup>	33,6 x 10 <sup>3</sup>	26 x 10 <sup>4</sup>	18,4 x 10 <sup>4</sup>
13,9 x 10 <sup>6</sup>	48,2 x 10 <sup>6</sup>	17,9 x 10 <sup>5</sup>	35,9 x 10 <sup>5</sup>
Tetric			
13,4 x 10 <sup>3</sup>	73 x 10 <sup>4</sup>	98 x 10 <sup>4</sup>	80 x 10 <sup>5</sup>
30,8 x 10 <sup>7</sup>	24,6 x 10 <sup>7</sup>	62,4 x 10 <sup>7</sup>	39,4 x 10 <sup>7</sup>
87 x 10 <sup>5</sup>	34 x 10 <sup>3</sup>	72,4 x 10 <sup>5</sup>	30,4 x 10 <sup>7</sup>
0	26 x 10	18,8 x 10 <sup>6</sup>	16,4 x 10 <sup>6</sup>
36,5 x 10 <sup>5</sup>	65 x 10 <sup>5</sup>	10,4 x 10 <sup>4</sup>	30,1 x 10 <sup>4</sup>
29,5 x 10 <sup>4</sup>	22,5 x 10 <sup>4</sup>	84,1 x 10 <sup>4</sup>	32,2 x 10 <sup>4</sup>
55,2 x 10 <sup>5</sup>	17,1 x 10 <sup>5</sup>	27,9 x 10 <sup>6</sup>	42,2 x 10 <sup>6</sup>
0	94 x 10 <sup>3</sup>	17,2 x 10 <sup>4</sup>	46 x 10 <sup>4</sup>
85 x 10 <sup>4</sup>	18,3 x 10 <sup>3</sup>	76,9 x 10 <sup>3</sup>	32,6 x 10 <sup>2</sup>
66,3 x 10 <sup>2</sup>	20,6 x 10 <sup>3</sup>	-	-
Empress			
77 x 10 <sup>3</sup>	0	20 x 10 <sup>2</sup>	54,6 x 10 <sup>5</sup>
93,6 x 10 <sup>6</sup>	15,2 x 10 <sup>7</sup>	68 x 10 <sup>6</sup>	15,8 x 10 <sup>7</sup>
16,3 x 10 <sup>5</sup>	12,2 x 10 <sup>5</sup>	26 x 10 <sup>4</sup>	58,5 x 10 <sup>4</sup>
40 x 10 <sup>2</sup>	91,3 x 10 <sup>3</sup>	37 x 10 <sup>3</sup>	10 x 10 <sup>3</sup>
20,7 x 10 <sup>6</sup>	20 x 10 <sup>6</sup>	59,7 x 10 <sup>4</sup>	50 x 10 <sup>4</sup>
20,2 x 10 <sup>5</sup>	34,2 x 10 <sup>4</sup>	53,4 x 10 <sup>5</sup>	94 x 10 <sup>4</sup>
80 x 10 <sup>5</sup>	24 x 10 <sup>5</sup>	59 x 10 <sup>5</sup>	80 x 10 <sup>5</sup>
83 x 10 <sup>2</sup>	80 x 10 <sup>4</sup>	12,7 x 10 <sup>4</sup>	40 x 10 <sup>2</sup>
49,1 x 10 <sup>4</sup>	11 x 10 <sup>4</sup>	70 x 10 <sup>4</sup>	31,1 x 10 <sup>4</sup>
48,2 x 10 <sup>6</sup>	27,2 x 10 <sup>6</sup>	16,9 x 10 <sup>5</sup>	35,4 x 10 <sup>6</sup>
57,9 x 10 <sup>7</sup>	26,1 x 10 <sup>5</sup>	30 x 10 <sup>6</sup>	43,3 x 10 <sup>5</sup>
19,4 x 10 <sup>6</sup>	80 x 10 <sup>6</sup>	80 x 10 <sup>6</sup>	20,4 x 10 <sup>6</sup>
80 x 10 <sup>4</sup>	80 x 10 <sup>4</sup>	12,2 x 10 <sup>4</sup>	31,2 x 10 <sup>4</sup>



BioMaingold SG			
0	0	0	0
0	0	0	0
0	$20 \times 10^2$	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
$20 \times 10$	0	0	0
$32,7 \times 10^5$	$42,4 \times 10^3$	$15,3 \times 10^3$	$11,2 \times 10^4$
0	0	0	0
0	0	0	0
$80 \times 10^5$	$44 \times 10^5$	$39,6 \times 10^5$	$80 \times 10^5$

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. W. Pfister, Institut für Medizinische Mikrobiologie der FSU Jena, für die Überlassung der Arbeit und seiner stets freundlichen Hilfe bei der Ausführung selbiger.

Ferner danke ich Herrn Prof. Dr. E. Glockmann, Poliklinik für Konservierende Zahnheilkunde der FSU Jena, für die zur Verfügungstellung der Materialien und seiner Warnung vor Anaerobiern (die dann doch unbeachtet blieb).

Den Mitarbeitern des Institutes für Medizinische Mikrobiologie danke ich für gute logistische sowie durchweg zuverlässige, engagierte und freundliche Unterstützung.

Weiterer Dank gilt den Mitarbeitern des Institutes für Ultrastrukturforschung der Medizinischen Fakultät der FSU bei der Erstellung der REM-Aufnahmen.

Zu guter Letzt danke ich den Vielen, die in irgendeiner Weise mit Rat und Tat an der Verwirklichung der Arbeit mitgewirkt haben.

## Lebenslauf

Name:	Rüdiger Büsing
Geburtsdatum:	06.04.1967
Geburtsort:	Sande/Friesland
08`73-06`77	Grundschule „Am Wiesenhof“ (Wilhelmshaven)
08`77-06`79	Orientierungsstufe: „Schulzentrum Bremer Straße (Wilhelmshaven) „Schulzentrum Borkum“ (Nordsee)
08`79-06`83	Realschule „Freiherr vom Stein“ (Wilhelmshaven)
08`83-12`83	Berufsgrundbildungsjahr (BGJ) Metalltechnik (BBS 2 Wilhelmshaven)
01`84-06`87	Ausbildung zum Zahntechniker
07`87-12`88	Berufstätigkeit (Zahntechnik)
01`89-04`90	Wehrdienst (Sanitäts-Soldat Zahntechnik, JaboG38 Friesland)
05`90-08`90	Berufstätigkeit (Zahntechnik)
08`90-06`91	Fachhochschulreife (Fachoberschule Metalltechnik, BBS 2 Wilhelmshaven)
08`91-06`94	Allgemeine Hochschulreife (Oldenburg Kolleg in Oldenburg)
09`94-03`00	Studium der Zahnmedizin (FSU Jena)
04`00	Approbation zum Zahnarzt
04`00- 07`02	Beendigung der Laborversuche zur Dissertation
seit 07`02	Zahnärztliche Tätigkeit in der Praxis für Zahnheilkunde „Hirschfeld“ (Jever)

## **Ehrenwörtliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, daß mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

Prof. Dr. W. Pfister, Institut für Medizinische Mikrobiologie

Prof. Dr. E. Glockmann, Poliklinik für Konservierende Zahnheilkunde

Die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistung von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

daß ich die Dissertation nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

daß ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Rüdiger Büsing

Jever, 10.02.2006

## **Gutachter**

1. Prof. Dr. W. Pfister, Institut f. Medizinische Mikrobiologie, FSU Jena
2. Prof. Dr. E. Glockmann, Poliklinik f. Konserv. Zahnheilkunde, FSU Jena
3. PD Dr. D. Pahncke, Poliklinik f. Zahnerhaltung, Universität Rostock

Tag der öffentlichen Verteidigung: 06.03.2007